

ELIZABETH MOREIRA DOS SANTOS SCHMIDT

## **Estudo de marcadores parasitológicos e hematológicos de resistência ao parasitismo gastrintestinal em ovinos**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias, Área de concentração: Patologia Animal.

Orientadora:

Prof.<sup>ª</sup> Dr.<sup>ª</sup> Vanete Thomaz Soccol

Co-orientadora:

Prof.<sup>ª</sup> Rosangela Locatelli Dittrich, MSc.

CURITIBA

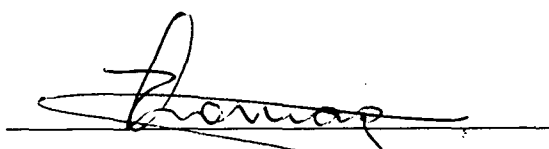
2000

**Estudo de marcadores parasitológicos e hematológicos de resistência ao  
parasitismo gastrintestinal em ovinos**

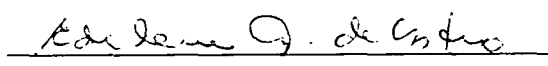
**por**

**Elizabeth Moreira dos Santos Schmidt**


Tese aprovada como requisito parcial para a obtenção do Grau de Mestre no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração Patologia Animal, Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná, pela Comissão formada pelos professores



Vanete Thomaz Soccol



Edilene Alcântara de Castro



Waldyr Hoffmann

Curitiba, 18 de abril de 2000.

Dedico este trabalho aos meus pais,  
Walter e Maria Auxiliadora.

## **AGRADECIMENTOS**

A Dra. Vanete Thomaz Soccol, professora, orientadora, presente em todos os momentos deste trabalho, pela dedicação e incentivos na minha orientação.

A minha co-orientadora professora Rosangela Locatelli Dittrich, pela cuidadosa leitura, sugestões e constantes incentivos e dedicação.

A CAPES, pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Tenente Mário Barbosa, do Quartel General da 5ª Região Militar em Curitiba, por ceder os animais e pelo apoio para a realização deste experimento.

Aos soldados, Reginaldo José dos Santos, José Ananias Carneiro e Alexandre Rogério Trindade, do Quartel General da 5ª Região Militar em Curitiba, pela ajuda e apoio para a realização da parte experimental deste trabalho.

A técnica do Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da UFPR, Nara Schimanski, meus sinceros agradecimentos pela auxílio e apoio em todos os exames laboratoriais.

Ao Laboratório de Parasitologia Animal do Setor de Ciências Biológicas, do Departamento de Patologia Básica, pela possibilidade de realização dos exames coproparasitológicos.

Ao Curso de Pós Graduação em Ciências Veterinárias, coordenador Dr. Luiz Ernandes Kozicki e secretário Francisco Gerber, cuja ajuda e atenção criaram condições para a realização deste trabalho.

A Professora Clotilde Germiniani pelos valiosos ensinamentos científicos e amizade.

Ao Professor Metry Bacila pela dedicação ao curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

Aos amigos e colegas do mestrado Maria Fernanda Torres, Fabíola Allessi, Juliana Castro, pela companhia agradável e amizade.

A Rita Mangrich Rocha, Simone Couto Silva, Cybelle Souza, Elza Ciffoni, pela amizade e companhia durante esta jornada.

Ao Ivan Roque de Barros Filho, pelas sugestões, críticas e amizade.

A mestranda Fernanda Rosalinski Morais, pelas sugestões, auxílios e, principalmente, por toda a ajuda na colheita de material e realização dos exames laboratoriais.

A Médica Veterinária Mere Saito, pela ajuda importantíssima na revisão bibliográfica, amizade e dedicação.

Aos acadêmicos do Curso de Medicina Veterinária, Cibelle Souza, Vanessa Oliveira, Marise Andri Piotto, Geraldo Perazolli, Martha Greca, Wanize Bonk e Marcos Jardim agradeço sinceramente por toda a ajuda na colheita de material e pela realização dos exames laboratoriais.

Andréia Chernaki pela companhia e amizade dedicada.

A Selma Alves Xavier, pelo carinho e ajuda sempre.

Aos meus pais, Walter e Maria Auxiliadora, e aos meus irmãos, Clarissa e Bruno, pela possibilidade de realização deste trabalho, pelo carinho e apoio em todos os momentos.

Ao Flávio Popazoglo, meu agradecimento especial, pela ajuda em todos os momentos, pela companhia, compreensão e carinho.

Aos animais, ovelhas e cordeiros, que permitiram a realização deste trabalho.

A estes e muitos outros, que direta ou indiretamente contribuíram para este trabalho.

## RESUMO

O objetivo desta dissertação foi o de identificar marcadores parasitológicos e hematológicos que reflitam a habilidade dos ovinos em resistir ao desafio dos nematóides para uma possível seleção de animais resistentes à verminose gastrointestinal. Foi estudado um rebanho ovino, de 22 ovelhas adultas e 26 cordeiros, na região de Curitiba. Os animais foram avaliados por um período de onze meses, através de colheitas de sangue e de fezes mensais para as ovelhas e com intervalos de quatorze dias para os cordeiros. O marcador parasitológico utilizado foi a quantidade de ovos por grama de fezes (opg) e os marcadores hematológicos utilizados foram: contagem de eosinófilos, hematócrito, concentração de hemoglobina, contagem total de eritrócitos, contagem total de leucócitos e proteínas plasmáticas totais. A metodologia empregada para a seleção dos animais em resistentes ou susceptíveis ao parasitismo foi a análise de cluster, a partir da qual foram formuladas três hipóteses para as ovelhas e quatro hipóteses para os cordeiros. Para as ovelhas, observou-se que a associação do opg com a contagem de eosinófilos e com a série vermelha do sangue, referentes a somente uma colheita de fezes e de sangue (pico de parasitismo do outono), foram suficientes para a seleção. Verificou-se que, para os cordeiros, antes de completarem sete meses de idade, a realização de um programa de seleção não é viável, pois há uma grande variação na resposta imunológica destes animais para os parâmetros estudados. Apesar desta ampla variação de resultados e da imaturidade do sistema imunológico, foi possível selecionar os cordeiros utilizando-se a associação do opg com a contagem de eosinófilos e a série vermelha sanguínea de quatro picos de parasitismo. Foram considerados 13 cordeiros susceptíveis (52,0% do rebanho), um intermediário (4,0% do rebanho) e 11 resistentes (44,0% do rebanho) ao parasitismo gastrointestinal. Quanto as ovelhas, quatro (18,18% do rebanho) foram consideradas susceptíveis, três (13,64%) intermediárias e 15 resistentes (68,17%) ao parasitismo gastrointestinal.

## ABSTRACT

The purpose of this work was to identify parasitological and haematological markers that reflect the ability of sheep to resist to nematode parasites challenge and the possibility to select resistant animals. A sheep flock with 22 ewes and 26 lambs in Curitiba, Paraná, Brazil, was evaluated for a period of eleven months. The parasitological marker used was the faecal egg counts (feg) and the haematological markers were: eosinophil counts, packed cell volume (PCV), haemoglobin, red blood cell counts (Rbc), white blood cells counts (Wbc) and plasmatic protein. The methodology chosen to select resistant and susceptible animals was the Cluster Analysis. Three different hypothesis were made to select the ewes and four different hypothesis for the selection of the lambs. The association between feg, eosinophil counts, PCV, haemoglobin and Rbc of a unique period was sufficient for the ewes. A program to select lambs was not possible until the lambs reached seven months old because there was a great individual variation of the immunological response of these animals. Despite this variation, it was possible to select the lambs with the association between feg, eosinophil counts, PCV, haemoglobin and Rbc of four different periods. There were considered 13 susceptible lambs, one intermediate and 11 resistant lambs. Four ewes were considered susceptible, three intermediate and 15 resistant to gastrointestinal nematodes.

## SUMÁRIO

Lista das tabelas .....	iv
Lista das figuras .....	ix
1. Introdução .....	1
2. Revisão da literatura.....	9
2.1. Agentes etiológicos.....	9
2.2. Mecanismos de sobrevivência dos parasitas .....	12
2.3. Série vermelha.....	13
2.4. Série branca .....	15
2.5. Proteínas plasmáticas .....	18
3. Material e métodos.....	19
3.1. Animais .....	19
3.2. Metodologia da colheita de fezes .....	20
3.3. Exames parasitológicos.....	20
3.3.1. Exame de fezes.....	20
3.3.2. Cultura de larvas .....	20
3.4. Metodologia da colheita de sangue.....	21
3.4.1. Colheita de sangue das ovelhas.....	21
3.4.2. Colheita de sangue dos cordeiros.....	22
3.5. Determinação dos valores hematológicos.....	22
3.5.1. Contagem de eritrócitos.....	22
3.5.2. Contagem de leucócitos.....	22



3.5.3. Micro-hematócrito.....	23
3.5.4. Determinação da concentração de hemoglobina.....	23
3.5.5. Proteínas plasmáticas totais .....	25
3.5.6. Contagem de eosinófilos .....	25
3.6. Análise estatística .....	26
4. Resultados.....	28
4.1. Ovelhas.....	28
4.1.1. Exames coproparasitológicos.....	28
4.1.2. Cultura de larvas .....	32
4.1.3. Hematócrito .....	34
4.1.4. Concentração de hemoglobina.....	35
4.1.5. Contagem de eritrócitos.....	36
4.1.6. Contagem total de leucócitos.....	37
4.1.7. Proteínas plasmáticas totais .....	38
4.1.8. Contagem de eosinófilos .....	39
4.2. Cordeiros.....	40
4.2.1. Exames coproparasitológicos.....	40
4.2.2. Cultura de larvas .....	46
4.2.3. Hematócrito .....	46
4.2.4. Concentração de hemoglobina.....	48
4.2.5. Contagem de eritrócitos.....	49
4.2.6. Contagem total de leucócitos.....	50
4.2.7. Proteínas plasmáticas totais .....	51
4.2.8. Contagem de eosinófilos .....	52

4.3. Seleção de animais.....	54
4.3.1. Ovelhas .....	55
4.3.2. Cordeiros.....	68
5. Discussão .....	78
6. Conclusão .....	90
7. Referências bibliográficas .....	91
Anexos.....	102

## LISTA DAS TABELAS

<b>Tabela 01:</b> Percentual de ovelhas parasitadas com ovos de <i>Moniezia expansa</i> e oocistos <i>Eimeria sp.</i> no período de outubro de 1998 a maio de 1999.....	29
<b>Tabela 02:</b> Média de ovos do tipo strongiliforme por grama de fezes (opg) das 22 ovelhas examinadas oriundas de um rebanho da região de Curitiba, Pr.....	30
<b>Tabela 03:</b> Resultados médios das culturas de larvas das ovelhas realizadas nos períodos de julho, setembro e outubro de 1998, março e maio de 1999.....	33
<b>Tabela 04:</b> Valores médios, mínimos e máximos do hematócrito (%) de todas as colheitas de sangue das 22 ovelhas.....	34
<b>Tabela 05:</b> Valores médios, mínimos e máximos da concentração de hemoglobina de todas as colheitas de sangue, das 22 ovelhas.....	36
<b>Tabela 06:</b> Valores médios, mínimos e máximos das contagens totais de eritrócitos, de todas as colheitas de sangue, das 22 ovelhas .....	37
<b>Tabela 07:</b> Valores médios, mínimos e máximos da contagem total de leucócitos de todas as colheitas de sangue, das 22 ovelhas.....	38

<b>Tabela 8:</b> Valores médios, mínimos e máximos das concentrações de proteínas plasmáticas totais de todas as colheitas de sangue, das 22 ovelhas .....	39
<b>Tabela 09:</b> _Valores médios, mínimos e máximos da contagem de eosinófilos de todas as colheitas de sangue, das 22 ovelhas.....	40
<b>Tabela 10:</b> Relação do percentual do rebanho de cordeiros parasitado com <i>Moniezia expansa</i> e <i>Eimeria sp.</i> durante o período experimental .....	41
<b>Tabela 11:</b> _Valores médios, mínimos e máximos de ovos de helmintos por grama de fezes das 20 colheitas de fezes dos 26 cordeiros .....	43
<b>Tabela 12:</b> Porcentagem de larvas de parasitos encontradas nas culturas realizadas em todas as colheitas de fezes dos 26 cordeiros .....	46
<b>Tabela 13:</b> _Valores médios, mínimos e máximos do hematócrito (%) de todas as colheitas de sangue dos 26 cordeiros .....	48
<b>Tabela 14:</b> _Valores médios, mínimos e máximos da concentração de hemoglobina, expressos em g/dl, de todas as colheitas de sangue dos 26 cordeiros .....	49
<b>Tabela 15:</b> _Valores médios, mínimos e máximos das contagens de totais de eritrócitos ( $\times 10^6/\mu\text{l}$ ), das colheitas mensais de sangue dos 26 cordeiros.....	50

<b>Tabela 16:</b> _Valores médios, mínimos e máximos das contagens totais de leucócitos (/μl) das colheitas mensais de sangue dos 26 cordeiros.....	51
<b>Tabela 17:</b> _Valores médios, mínimos e máximos das concentrações de proteínas plasmáticas de todas as colheitas de sangue dos 26 cordeiros .....	52
<b>Tabela 18:</b> _Valores médios, mínimos e máximos das contagens de eosinófilos de todas as colheitas de sangue do rebanho dos cordeiros .....	53
<b>Tabela 19:</b> _Valores médios de opg, contagem de eosinófilos, hematócrito (Ht), concentração de hemoglobina (Hb), contagem total de eritrócitos (RBC), proteínas plasmáticas totais (PPT) e contagem total de leucócitos (WBC) dos grupos das ovelhas em todas as colheitas de fezes e de sangue .....	56
<b>Tabela 20:</b> _Valores médios de opg, contagem de eosinófilos, hematócrito (Ht), concentração de hemoglobina (Hb), contagem total de eritrócitos (RBC), proteínas plasmáticas totais (PPT) e contagem total de leucócitos (WBC) dos grupos das ovelhas nas três últimas colheitas de fezes e de sangue (30/03/99, 27/04/99 e 25/05/99).....	59
<b>Tabela 21:</b> _Valores médios de opg, contagem de eosinófilos, hematócrito, concentração de hemoglobina, contagem total de eritrócitos e proteínas plasmáticas totais dos grupos das ovelhas consideradas susceptíveis, intermediárias e resistentes nas três últimas colheitas (30/03, 27/04 e 25/05) de fezes e de sangue.....	60

**Tabela 22:** Valores médios de opg, contagem de eosinófilos, hematócrito (Ht), concentração de hemoglobina (Hb), contagem total de eritrócitos (RBC), proteínas plasmáticas totais (PPT) e contagem total de leucócitos (WBC) dos grupos A e B das ovelhas no pico de infecção (30/03/99)..... 62

**Tabela 23:** Valores médios de opg, contagem de eosinófilos, hematócrito (Ht), concentração de hemoglobina (Hb), contagem total de eritrócitos (RBC) e proteínas plasmáticas totais (PPT) dos grupos das ovelhas no pico de infecção (30/03/99)..... 65

**Tabela 24:** Separação das ovelhas em grupos susceptível, intermediário e resistente de acordo com o opg e a contagem de eosinófilos, opg e hematócrito, opg e concentração de hemoglobina, opg e contagem total de eritrócitos e opg e proteínas plasmáticas totais do pico de infecção parasitária (30/03/99) e das 3 últimas colheitas de fezes e de sangue (30/03/99, 27/04/99, 25/05/99)..... 67

**Tabela 25:** Valores médios de opg, contagem de eosinófilos, hematócrito (Ht), concentração de hemoglobina (Hb), contagem total de eritrócitos (RBC) e proteínas plasmáticas totais (PPT) dos grupos dos cordeiros no primeiro pico de infecção parasitária (17/11/98 e 01/12/98)..... 70

**Tabela 26:** Valores médios de opg, contagem de eosinófilos, hematócrito (Ht), concentração de hemoglobina (Hb), contagem total de eritrócitos (RBC) e proteínas plasmáticas totais (PPT) dos grupos dos cordeiros no segundo pico de infecção parasitária (26/01/99 e 09/02/99)..... 72

<b>Tabela 27:</b> Valores médios de opg, contagem de eosinófilos, hematócrito (Ht), concentração de hemoglobina (Hb), contagem total de eritrócitos (RBC) e proteínas plasmáticas totais (PPT) dos grupos dos cordeiros no terceiro pico de infecção parasitária (06/04/99).....	73
<b>Tabela 28:</b> Valores médios de opg, contagem de eosinófilos, hematócrito (Ht), concentração de hemoglobina (Hb) e contagem total de eritrócitos (RBC) e proteínas plasmáticas totais (PPT) dos grupos dos cordeiros no quarto pico de infecção parasitária (04/05/99).....	74
<b>Tabela 29:</b> Separação dos cordeiros em grupos susceptível, intermediário e resistente à infecção por helmintos gastrintestinais em cada pico de parasitismo .....	77

## LISTA DAS FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Média de ovos de helmintos por grama de fezes das ovelhas adultas, durante o período de julho de 1998 a maio de 1999 .....	29
<b>Figura 2:</b> Média de ovos strongiliformes em ovelhas adultas, durante o período de julho de 1998 a maio de 1999.....	31
<b>Figura 3:</b> Gêneros de strongilídeos encontrados nas culturas de larvas das ovelhas durante o período de julho de 1998 a maio de 1999 .....	33
<b>Figura 4:</b> Média de ovos de helmintos por grama de fezes em cordeiros, durante o período de julho de 1998 a maio de 1999 .....	42
<b>Figura 5:</b> Média de opg em cordeiros, durante o período de julho de 1998 a maio de 1999 .....	44
<b>Figura 6:</b> Gêneros de strongilídeos encontrados nas culturas de larvas dos cordeiros ao longo do período de agosto de 1998 a junho de 1999.....	47
<b>Figura 7:</b> Dendograma construído segundo método hierárquico ascendente, utilizando a distância euclidiana a linhas completas. Foram utilizados todos os dados de todas as colheitas de fezes e de sangue das ovelhas.....	57



- Figura 8:** Dendograma construído segundo método hierárquico ascendente, utilizando a distância euclidiana a linhas completas. Foram utilizados os dados referentes as três últimas colheitas (30/03/99, 27/04/99 e 25/05/99) de fezes e de sangue das ovelhas ..... 58
- Figura 9:** Dendograma construído segundo método hierárquico ascendente, utilizando a distância euclidiana a linhas completas. Foram utilizados os dados de opg, da contagem de eosinófilos e da série vermelha do sangue das três últimas colheitas (30/03/99, 27/04/99 e 25/05/99) das ovelhas ..... 60
- Figura 10:** Dendograma construído segundo método hierárquico ascendente, utilizando a distância euclidiana a linhas completas. Foram utilizados todos os dados referentes ao pico de parasitismo (30/03/99) das ovelhas ..... 61
- Figura 11:** Dendograma construído segundo método hierárquico ascendente, utilizando distância euclidiana a linhas completas. Foram utilizados os dados de opg, da contagem de eosinófilos e da série vermelha do sangue, do pico de parasitismo (30/03/99) das ovelhas ... 64
- Figura 12:** Classificação das ovelhas em grupos resistente, intermediário e susceptível ao parasitismo gastrintestinal, segundo o pico de parasitismo de outono (30/03/99) ..... 66
- Figura 13:** Dendograma construído segundo método ascendente hierárquico, utilizando a distância euclidiana a linhas completas. Foram utilizados os dados de opg, contagem de eosinófilos, série vermelha do sangue e proteínas plasmáticas totais das colheitas de 17/11/98 e 01/12/98 dos cordeiros ..... 71

<b>Figura 14:</b> Dendograma construído segundo método ascendente hierárquico, utilizando distância euclidiana a linhas completas. Foram utilizados dados de opg, contagem de eosinófilos, da série vermelha do sangue e das proteínas plasmáticas totais referentes as colheitas de 26/01/99 e 09/02/99, dos cordeiros .....	71
<b>Figura 15:</b> Dendograma construído segundo método ascendente hierárquico, utilizando distância euclidiana a linhas completas. Foram utilizados os dados de opg, contagem de eosinófilos, série vermelha dos sangue e proteínas plasmáticas totais de 25 cordeiros em 06/04/99 .....	75
<b>Figura 16:</b> Dendograma construído segundo método ascendente hierárquico, utilizando distância euclidiana a linhas completas. Foram utilizados dados de opg, contagem de eosinófilos, série vermelha do sangue e proteínas plasmáticas totais de 23 cordeiros em 04/05/99 .....	75
<b>Figura 17:</b> Classificação dos cordeiros em grupos susceptíveis, intermediários e resistentes ao parasitismo gastrintestinal, de acordo com as quatro hipóteses propostas .....	76

## 1. INTRODUÇÃO

No Estado do Paraná, a espécie ovina tem demonstrado maior crescimento entre os animais explorados zootecnicamente. Atualmente o estado possui um rebanho de aproximadamente 400.000 cabeças (SEAB, 1999). A maior parte destes animais é proveniente de importações do Rio Grande do Sul e do Uruguai, realizadas pelo governo estadual, de 1988 a 1994. Esse rápido aumento do rebanho Paranaense exige estudos contínuos para incrementar a produtividade do rebanho.

Nas regiões onde a ovinocultura representa um papel essencial na economia, os parasitos gastrintestinais são uma das principais causas de perdas na produtividade dos ovinos, justificando o interesse e a relevância de estudos e pesquisas nesta área (BECK, MOIR & MEPPEN, 1985; ALBERS *et al.*, 1987; DAWKINS *et al.*, 1988; BEKELE, KASALI & REGE, 1992; GASBARRE, 1997).

Um dos principais problemas da ovinocultura paranaense é a verminose (SOTOMAIOR, 1997; SOUZA, 1997), devido ao rápido crescimento do rebanho, a ausência de qualificação de técnicos na área e também pelas características de criação do Estado do Paraná.

Normalmente os ovinos são criados em pequenas áreas e com superlotação, sendo que o alto índice de larvas nas pastagens representa uma fonte de infecção constante. Os ovinocultores, tentando controlar essa situação, passaram a utilizar esquemas de desverminação múltipla (de 30 em 30 dias) ou supressiva (de 15 em 15 dias). O resultado desta metodologia é o alto custo do tratamento e o rápido aparecimento da resistência dos parasitos aos vários princípios ativos (SOCCOL *et al.*, 1996).

O problema da resistência dos nematóides aos anti-helmínticos é uma preocupação de caráter mundial (WALLER, 1994). A resistência dos helmintos de ovinos aos agentes quimioterapêuticos tornou-se importante na ovinocultura mundial há três décadas, principalmente no Hemisfério Sul (FARIAS *et al.*, 1997).

Nos países da Comunidade Européia, a resistência aos antihelmínticos, principalmente aos benzimidazoles, está aumentando (COLES *et al.*, 1994). Na Escócia, JACKSON *et al.* (1992) encontraram parasitos de ovinos e caprinos resistentes à ivermectina.

A resistência às principais classes de antihelmínticos foi observada em vários países do continente africano (WALLER, 1997). No Quênia, WANYANGU *et al.* (1994) relataram a resistência de parasitos aos benzimidazóis e ivermectinas.

Na Austrália, a primeira descrição de resistência ocorreu em 1968 (KIERAN, 1994) e na Nova Zelândia em 1980 (WALLER, 1994). Também na Austrália, WALLER *et al.* (1995) observaram resistência aos benzimidazóis, levamisóis e morantel em aproximadamente 80% dos rebanhos ovinos.

Nos Estados Unidos, o primeiro caso registrado de cepas resistentes de parasitos de ovinos à antihelmínticos aconteceu na década de 60 (DRUDGE *et al.*, 1964). Estudos recentes em pequenos ruminantes da América do Norte demonstraram resistência aos benzimidazoles (UHLINGER *et al.*, 1992).

A América Latina tem os maiores níveis de resistência antihelmíntica do mundo (WALLER, 1997). A resistência aos antihelmínticos já foi descrita na região norte da Argentina, no Paraguai e no Uruguai, onde atualmente a situação é crítica (EDDI *et al.*, 1996; MACIEL *et al.*, 1996; NARI *et al.*, 1996).

No Brasil, a resistência do *Haemonchus contortus* ao tiabendazole foi descrita pela primeira vez no Estado do Rio Grande do Sul por SANTOS & GONÇALVES (1967). Outros

autores observaram resistência do *Haemonchus contortus* (Rudolphi, 1803), *Trichostrongylus colubriformis* (Giles, 1892), *Ostertagia circumcincta* (Stadelmann, 1894) e *Ostertagia trifurcata* (Ramson, 1907) ao levamisol, do *Haemonchus contortus* e *Trichostrongylus colubriformis* ao morantel e do *Haemonchus contortus* à rafoxanida (SANTIAGO *et al.*, 1977; SANTIAGO *et al.*, 1979; SANTIAGO & COSTA, 1979; SANTIAGO *et al.*, 1981; SANTIAGO *et al.*, 1982).

ECHEVARRIA & TRINDADE (1989), VIEIRA *et al.* (1989) e SOUZA *et al.* (1993) relataram a resistência do *Haemonchus contortus* à ivermectina na região sul do Brasil.

FARIAS *et al.*, (1997) observaram resistência aos antihelmínticos em ovinos do sul do Brasil. Nessa pesquisa, os resultados das culturas de larvas indicaram que *Trichostrongylus sp.*, *Ostertagia sp.* e *Haemonchus sp.*, foram os gêneros mais prevalentes e os gêneros *Trichostrongylus sp* e *Haemonchus sp* associados com a resistência aos antihelmínticos.

No Estado do Paraná, SOCCOL *et al.* (1996); SOTOMAIOR, (1997); SOUZA, (1997) demonstraram que o problema da verminose é um fator limitante para a produção e desenvolvimento da ovinocultura. Estes autores também demonstraram existir resistência dos parasitas aos vários grupos de antihelmínticos, até mesmo àqueles de última geração. Esta resistência chega ao ponto alarmante de que em algumas propriedades não há vermífugos capazes de combater os parasitos (SOUZA, 1997).

Assim, além do controle quimioterápico, novas alternativas para o controle da verminose ovina têm sido pesquisadas.

Uma alternativa seria a seleção de animais geneticamente resistentes aos parasitos gastrintestinais. ALBERS *et al.* (1987) consideraram resistência do hospedeiro aos parasitos gastrintestinais a habilidade dos ovinos em impedir o estabelecimento e/ou subsequente desenvolvimento da infecção parasitária.

Para isso, a quantificação da carga parasitária seria a forma mais direta de se avaliar esta característica (KASSAI *et al.*, 1990). Porém, como este método implica em morte do animal, outros parâmetros têm sido estudados como alternativa para a identificação dos animais resistentes (CABARET *et al.*, 1998). Esses parâmetros podem ser chamados de marcadores de animais resistentes e susceptíveis.

O estudo de marcadores já proporcionou a seleção de linhagens resistentes em vários países, como a Austrália (WOOLASTON, BARGER & PIPER, 1990), a Hungria (KASSAI *et al.*, 1990), e a Nova Zelândia (BISSET *et al.*, 1992). Nestes países já existem programas de seleção à nível comercial (McEWAN, 1994; EADY, 1997).

As pesquisas realizadas nos últimos 20 anos têm estabelecido que é possível explorar a variação genética por seleção para a resistência aos parasitas nematóides em ovinos.

A quantidade de ovos por grama de fezes tem sido um dos marcadores mais utilizados, uma vez que ele se mostra diretamente proporcional ao grau de infecção do parasito no hospedeiro. Diferentes esquemas de seleção baseados na contagem de ovos por grama de fezes são propostos (ALBERS *et al.*, 1987; KASSAI *et al.*, 1990; WOOLASTON, BARGER & PIPER, 1990; SRÉTER, KASSAI & TAKÁKS, 1994; SOTOMAIOR, 1997).

Além da quantificação de ovos nas fezes, os estudos de outros marcadores se fazem necessários para selecionar animais resistentes à parasitose e que mantenham boas características zootécnicas produtivas (ALLONBY *et al.*, 1976; KASSAY *et al.*, 1990; BUDDLE *et al.*, 1992).

Um dos primeiros parâmetros estudados e associados à resistência foi o tipo de hemoglobina. Podem ser identificados três tipos de hemoglobina nos ovinos: AA, AB e BB, determinados geneticamente por dois alelos (HUISMAN, VLIET & SEBENS, 1958).

Muitos trabalhos demonstraram a associação do tipo da hemoglobina à maior resistência aos parasitas (EVANS, BLUNT & SOUTHCOTT, 1963; JILEK & BRADLEY, 1969; ALLONBY & URQUHART, 1976; ALTAIF & DARGIE, 1978; PRESTON & ALLONBY, 1979; CHIMINAZZO *et al.*, 1996).

Entretanto, outros autores não confirmaram esta associação (RADHAKRISHNAN *et al.*, 1972; KASSAI *et al.*, 1990). Segundo GRAY (1997), o tipo de hemoglobina é atualmente considerado um marcador ultrapassado e devido à controvérsia dos resultados, não há conclusão em relação ao uso do tipo de hemoglobina como marcador para resistência. SOTOMAIOR (1997) em estudo realizado no Estado do Paraná demonstrou que a frequência do alelo A é baixa e que este caráter não é útil para a seleção de animais resistentes e susceptíveis à verminose gastrointestinal.

Outros parâmetros como a média de concentração de hemoglobina (JILEK & BRADLEY, 1969) e o declínio dos valores do hematócrito após infecção experimental com larvas de *Haemonchus contortus* (WOOLASTON, BARGER & PIPER, 1990) já foram usados para selecionar animais resistentes ou susceptíveis. ALBERS *et al.* (1987) sugeriram que a seleção baseada no hematócrito poderia ser uma alternativa para a identificação dos animais resistentes, devido à alta correlação genética entre a contagem de ovos nas fezes e o valor do hematócrito.

GILL (1991) sugeriu que a resistência genética dos ovinos ao *Haemonchus contortus* resulta da expressão de uma resposta imunológica adquirida. Os anticorpos e os mediadores celulares teriam um papel importante na determinação genética da resistência dos ovinos à haemoncose. Tal hipótese pode ser confirmada pelo desaparecimento das diferenças na resistência ao *Haemonchus contortus* em animais tratados com imunossupressores (BUDDLE

*et al.* 1992; PRESSON, GRAY & BURGESS, 1998). Portanto, outra alternativa para a seleção de animais resistentes seria a identificação de animais imunologicamente mais competentes.

Muitos trabalhos têm sido realizados tentando correlacionar a eosinofilia com a maior ou menor resistência aos parasitas (DAWKINS, WINDON & EAGLESON, 1989; BUDDLE *et al.*, 1992; ROTHWELL *et al.*, 1993; STEAR, 1995; SOTOMAIOR, 1997). Os eosinófilos são importantes componentes celulares da resposta inflamatória contra helmintos (ROTHWELL & DINEEN, 1972) e seu papel, contra estes parasitas, ainda não está completamente definido (BUDDLE *et al.*, 1992). Estudos recentes têm sido conduzidos de forma a avaliar a utilidade do eosinófilo como marcador para a seleção de animais geneticamente resistentes à parasitose gastrintestinal.

ROTHWELL *et al.* (1993) estudaram a relação entre eosinofilia e a resposta à infecção por *Trichostrongylus colubriformis* em ovelhas e observaram que as contagens de eosinófilos em ovinos altamente responsivos podem ser consistentes com a função imunológica. E a eosinofilia pode indicar um aumento na reatividade geral do hospedeiro contra a infecção por nematóides. A função antiparasitária dos eosinófilos na mucosa intestinal foi sugerida por GLEICH *et al.* (1979), que estudaram a susceptibilidade e imunidade adquirida ao *Trichostrongylus colubriformis* em porquinhos da Índia.

STEAR *et al.* (1995) demonstraram que o opg, a contagem de eosinófilos e as concentrações plasmáticas de pepsinogênio promovem a identificação efetiva de ovinos resistentes e susceptíveis à parasitose gastrintestinal.

Vários trabalhos já foram realizados relacionando a resistência dos nematóides gastrintestinais com raças ovinas (RADHAKRISHNAN *et al.*, 1972; YAZWINSKI *et al.*, 1981; KASSAI *et al.*, 1990; BUDDLE *et al.*, 1992). As questões remanescentes não estão relacionadas com a habilidade de selecionar animais com base na sua carga parasitária, como



a contagem de ovos por grama de fezes, mas nas consequências da seleção para a produtividade, seus benefícios e custos associados com programas de seleção de raças.

Os benefícios da seleção pela resistência surgem dos efeitos da presença de poucos parasitas, o que deveria reduzir o impacto na produção, com menor necessidade de controle químico e diminuição da contaminação do pasto por larvas infectantes (GRAY, 1997).

Segundo estudo realizado por SOTOMAIOR (1997), a metodologia de contagem de ovos de helmintos por grama de fezes (opg) mostrou-se eficiente para a identificação de animais resistentes e susceptíveis à verminose gastrointestinal. Quanto às concentrações de hemoglobina e valores do hematócrito, observou-se diferença estatística significativa entre os animais, ovelhas e cordeiros, considerados resistentes e susceptíveis quando avaliados no momento de maior nível de infecção parasitária. Com relação ao nível de eosinófilos sanguíneos, o autor encontrou diferença estatística significativa entre as ovelhas consideradas resistentes e susceptíveis à verminose gastrointestinal. Entretanto, tal relação não foi observada ao comparar os cordeiros desmamados resistentes aos susceptíveis à verminose gastrointestinal.

Duas hipóteses poderiam explicar o não aparecimento de resposta eosinofílica significativa entre cordeiros resistentes e susceptíveis. A primeira seria a idade em que os cordeiros foram submetidos ao experimento, uma vez que somente após os seis meses de idade eles seriam capazes de estabelecer uma resposta imunológica completa (SRÉTER, KASSAI & TAKAKS, 1994). A segunda seria que os cordeiros resistentes apresentariam valores baixos de opg apenas após uma segunda infecção (GILL, 1991).

Com base nestes fatos o presente trabalho foi desenvolvido com o objetivo de identificar marcadores parasitológicos e hematológicos que reflitam a habilidade do hospedeiro em resistir ao desafio dos nematóides para uma possível seleção de animais

resistentes à verminose gastrintestinal, definindo o período ideal para esta seleção e estabelecer a partir de que idade se inicia a resposta imunológica dos animais jovens.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1. Agentes etiológicos

Os trichostrongilídeos são parasitos de pequeno porte, pertencentes à superfamília *Strongyloidea*, família *Trichostrongylidae* que representa, sem dúvida, um dos maiores entraves na produção em ovinos (BOWMAN, 1999). Por esta razão, nesta revisão, serão abordados mais especificamente as espécies *Haemonchus contortus* e *Trichostrongylus colubriformis*, uma vez que no Estado do Paraná são os principais representantes desta superfamília, como observado em levantamentos realizados através de necropsias por MORAES *et al.*, (1998).

#### *Haemonchus contortus* (Rudolphi, 1803)

O *Haemonchus contortus* tem como habitat o abomaso de ovinos e de outros ruminantes. Trata-se de uma espécie hematófaga. As fêmeas medem aproximadamente 18-30 mm e os machos 10-20 mm (SMYTH, 1994).

Estes parasitos possuem uma pequena cavidade bucal em forma de lança. O macho tem a bolsa copulatória assimétrica. O útero da fêmea possui a forma de espiral ao redor do intestino repleto de sangue. Por isso, geralmente estes parasitas apresentam uma coloração avermelhada. A vulva apresenta processos vulvares cuticulares de forma variada: linguiforme, botão, lisa. A predominância dessas formas vulvares variam entre as espécies e subespécies de *Haemonchus* (BOWMAN, 1999).

Este gênero tem distribuição mundial. Entretanto, como o desenvolvimento larval ocorre de modo ideal em temperaturas relativamente altas, a doença causada pelo *Haemonchus contortus* é basicamente uma enfermidade de ovinos de climas quentes. A

umidade alta é essencial para o desenvolvimento e sobrevivência das larvas no microclima das fezes e da pastagem. A frequência e a gravidade dos surtos dependem amplamente do índice pluviométrico (URQUHART *et al.*, 1998).

O *Haemonchus contortus* é parasito que ocorre em zonas úmidas e de clima quente. A ocorrência deste helminto a níveis patogênicos foi verificada apenas nos meses de verão e outono. As oscilações na população de *Haemonchus contortus* nessas estações parecem ser reguladas pela precipitação pluviométrica (SANTIAGO, BENEVENGA & DA COSTA, 1976).

Estes parasitos apresentam ciclo biológico direto, com a eliminação de ovos embrionados nas fezes de seu hospedeiro. As larvas de terceiro estágio são infectantes e podem permanecer viáveis por até seis meses no ambiente, dependendo da umidade do solo. Após a ingestão, as larvas infectantes penetram na mucosa do abomaso onde se transformam em larvas infectantes de quarto estágio (L<sub>4</sub>) e, posteriormente, emergem para a luz do órgão e se transformam em larvas infectantes de quinto estágio (L<sub>5</sub>) e em parasitas adultos (ORTOLANI, 1997).

Em condições naturais, o equilíbrio entre parasito e hospedeiro é tal que geralmente a carga parasitária é bem tolerada pelo hospedeiro. Entretanto, fatores decorrentes da domesticação (manejo, confinamento, alimentação, introdução de animais provenientes de outras regiões), alteraram este equilíbrio em favor do parasito. Além disso, nos estádios de vida livre, os helmintos respondem de maneiras diversas às condições do clima, e as diferentes espécies de helmintos tendem a ocorrer em diferentes épocas do ano, o que possibilita planificar medidas de controle estacionais ou estratégicas (SANTIAGO, BENEVENGA & DA COSTA, 1976).

Os cordeiros são parasitados desde os primeiros meses de vida, provavelmente como resultado do "spring rise", que é um aumento súbito no número de nematóides nas fezes das

ovelhas na época do parto, provendo a fonte de infecção para os cordeiros (SANTIAGO *et al.*, 1970; SOTOMAIOR, 1997).

Os efeitos patogênicos do *Haemonchus contortus* resultam da incapacidade do hospedeiro em compensar a perda de sangue. Se a taxa de perda sanguínea excede a capacidade hematopoiética do hospedeiro, porque o desafio parasitário é muito intenso ou a resposta do hospedeiro é deficiente por más condições de alimentação, fenótipo deficiente ou "stress", ocorre uma anemia progressiva que pode levar o animal rapidamente à morte. O principal sinal de haemoncose é a palidez das membranas mucosas, fraqueza, com hematócrito abaixo de 15% e diminuição das concentrações de hemoglobina. A perda das proteínas plasmáticas resulta em anasarca, frequentemente manifestado por edema submandibular (BOWMAN, 1999).

#### ***Trichostrongylus colubriformis* (Giles, 1892)**

Os parasitas do gênero *Trichostrongylus sp.* são pequenos, com menos de sete milímetros de comprimento, sem invaginações cefálicas e virtualmente sem cápsula bucal. Os espículos são curtos, retorcidos e pontiagudos. Apresentam distribuição mundial, parasitam o abomaso ou a porção anterior do intestino delgado de ruminantes (BOWMAN, 1999).

São descritas para este gênero oito espécies. Destas espécies, cinco ocorrem em pequenos ruminantes: *Trichostrongylus axei* (Cobbold, 1879), *Trichostrongylus colubriformis* (Giles, 1892), *Trichostrongylus rugatus* (Mönnig, 1925), *Trichostrongylus skrjabini* (Kalantarian, 1930) e *Trichostrongylus vitrinus* (Looss, 1905) (ANDERSON, 1992).

O *Trichostrongylus colubriformis* é um parasita cosmopolita do intestino delgado de ruminantes. Como a maioria dos trichostrongilídeos, existem estádios pré-parasitários livres e

larvas infectantes na vegetação, que são resistentes às condições de seca e toleram baixas temperaturas (ANDERSON, 1992).

Apesar das infecções por *Trichostrongylus colubriformis* serem assintomáticas, quando presentes em grande número (de 10.000 a 100.000) estes parasitas provocam diarreia aquosa e de coloração verde escuro, principalmente em animais submetidos a condições de "stress" e de alimentação deficiente (BOWMAN, 1999). Esta diarreia produz fraqueza, emaciação, perda de peso, inapetência e baixo índice de crescimento dos animais (URQUHART *et al.*, 1998).

## 2.2. Mecanismos de sobrevivência dos parasitas

A capacidade dos parasitas de sobreviver em hospedeiros vertebrados reflete as adaptações evolutivas destes organismos, que desenvolveram formas de resistir à imunidade específica do hospedeiro. Foram observadas duas formas de resistência ao organismo hospedeiro:

- redução ou alteração da sua própria antigenicidade
- inibição ativa das respostas imunes do hospedeiro

O parasito, durante sua permanência no hospedeiro, adquire em sua superfície um revestimento de proteínas do próprio hospedeiro. Em decorrência deste revestimento com proteínas próprias, os antígenos parasitários ficam "mascarados" e o parasito é reconhecido como próprio pelo sistema imune do hospedeiro (ABBAS, LICHTMAN & POBER, 1998). ROITT, BROSTOFF & MALE (1998) afirmam que a resistência de hospedeiros, individualmente, varia, e pode ser controlada por vários genes de resposta imune.

A competência imunológica do ovino começa a desenvolver-se entre os seis e os nove meses de idade, por isto, é conveniente submetê-los a desafios larvários (NARI & CARDOZO,

1987). A proteção não é uniforme para todas as espécies de nematóides e nem em todos indivíduos de um mesmo rebanho. Em uma determinada categoria de ovinos, sempre existem indivíduos menos capazes de desenvolver resistência.

O desenvolvimento deste estado e sua estabilidade dependem fundamentalmente de fatores hereditários, idade, exposição a infecções prévias, estado fisiológico e nutricional dos animais. Atualmente existem fatores genéticos que determinam a habilidade de certas raças de ovinos e de seus cruzamentos a desenvolverem resistência (NARI & CARDOZO, 1987). WINDON, DINEEN & KELLY (1980) determinaram dentro de uma mesma raça, uma capacidade genética diferencial para o desenvolvimento de resistência, que se manifesta prematuramente.

Um estudo sobre o efeito da infecção gastrintestinal por nematóides no sistema imune dos ruminantes foi realizado por GASBARRE (1997), tendo o autor observado que os nematóides gastrintestinais provocam uma variedade de respostas imunes nos seus hospedeiros. Este autor estudou bovinos parasitados por *Ostertagia ostertagi* (Stiles, 1892), observando que as respostas imunológicas responsáveis pela redução do número de parasitas, que se estabelecem no hospedeiro, não são evidentes até o segundo ano de idade dos animais. Devido a esta aparente ausência de resposta imune protetora, as infecções com *Ostertagia ostertagi* induzem profundas alterações no sistema imunológico do hospedeiro. O autor observou também que os parasitas de abomaso são considerados mais patogênicos e com maior dificuldade de desenvolvimento da resposta imune pelo hospedeiro.

Possivelmente o abomaso não seja um local adequado para a apresentação de antígenos parasitários, e as respostas fracas e tardias resultam de uma exposição "subótima" do hospedeiro aos antígenos apropriados (GASBARRE, 1997).

### **2.3. Série vermelha**

#### **Eritrócitos**

A função primária dos eritrócitos é o transporte de hemoglobina. São as células mais numerosas do sangue e nos mamíferos possuem forma discóide e são anucleadas. Os eritrócitos dos ovinos são uniformemente bicôncavos com uma pequena concavidade central (JAIN, 1986).

#### **Hemoglobina**

A hemoglobina é uma proteína conjugada, que consiste em um conjunto de quatro unidades de heme e por uma proteína simples, a globina. É essencial para os mamíferos porque realiza o transporte de oxigênio necessário para a sobrevivência das células. Sua síntese ocorre no citoplasma dos precursores nucleados dos eritrócitos e é responsável por um terço do conteúdo celular do eritrócito maduro. Existem vários tipos de hemoglobina nas diferentes espécies animais e também dentro da mesma espécie animal. Estas diferenças são determinadas por alterações da sequência de aminoácidos da molécula (JAIN, 1986).

A associação do tipo de hemoglobina e a resistência à helmintíase em ovinos foi descrita por BLUNT & EVANS (1963); ALTAIF & DARGIE (1978); PRESTON & ALLONBY (1979). Entretanto, o tipo de hemoglobina nesta associação ainda é considerado controverso.

SOTOMAIOR (1997) observou uma baixa percentagem de animais com o genótipo AA, não permitindo que fossem feitas correlações entre o tipo de hemoglobina e outros parâmetros indicadores de parasitismo. Outros autores também não encontraram relação entre o tipo de hemoglobina e resistência à verminose (WINDON, DINEEN & KELLY, 1980; KASSAI *et al.*, 1990).



### **Hematócrito**

O hematócrito, ou volume globular, define a concentração de eritrócitos em determinado volume de sangue. O hematócrito é expresso em porcentagem após a separação do sangue em três partes (volume dos eritrócitos, volume dos leucócitos e plaquetas, e plasma) por centrifugação em condições padronizadas (JAIN, 1986).

Trata-se de um parâmetro hematológico útil para o diagnóstico de anemias, que podem ser causadas por parasitas. É bastante utilizado em laboratórios devido a facilidade e rapidez da técnica do microhematócrito.

## **2.4. Série branca**

### **Leucócitos**

Os leucócitos são as células relacionadas com a defesa do organismo contra infecções (JAIN, 1986). Estas células atuam na identificação e neutralização de antígenos, que são responsáveis pelo desencadeamento do processo de inflamação (GARCIA-NAVARRO & PACHALY, 1994).

Segundo GILL *et al.* (1994), as células mais importantes envolvidas na expulsão do *Haemonchus contortus*, quando presentes na mucosa gástrica, são os mastócitos intraepiteliais, os mastócitos de mucosa, basófilos e os eosinófilos. O hospedeiro parasitado reage, além da reação humoral e imunitária local, com uma resposta leucocitária periférica, apesar desse fenômeno variar como já demonstrado em pesquisas anteriores.

### **Eosinófilos**

Os eosinófilos são as células responsáveis pela defesa contra certos tipos de agentes infecciosos (ABBAS, LICHTMAN & POBER, 1998), sendo predominantemente células

teciduais. Normalmente a quantidade de eosinófilos é 100 vezes maior nos tecidos do que no sangue (WELLER, 1991). Estão localizados primariamente na pele, nos pulmões, no trato gastrointestinal e no útero durante o estro (RYTÖMAA, 1960). São células efetivas na destruição de agentes que estimulam a produção de IgE, como helmintos parasitas, que são eliminados pelas proteínas dos grânulos especializados dos eosinófilos. O eosinófilo também é responsável pela mediação de um tipo especial de citotoxicidade mediada por células-anticorpo dependente (ADCC) dirigido contra helmintos (ABBAS, LICHTMAN & POBER, 1998).

Os eosinófilos compreendem de dois a cinco por cento dos leucócitos sanguíneos em indivíduos sadios e não alérgicos. A principal característica morfológica destas células é a presença de grânulos citoplasmáticos acidófilos (ROITT, BROSTOFF & MALE, 1998), que contêm proteínas catiônicas (WELLER, 1991).

Alguns estímulos provocam a degranulação da célula, o que envolve a fusão dos grânulos intracelulares com a membrana plasmática e a liberação dos grânulos. Este tipo de reação é a forma da célula utilizar sua degranulação contra alvos grandes que não são fagocitados (ROITT, BROSTOFF & MALE, 1998). Após a degranulação, os eosinófilos se ligam progressivamente e irreversivelmente ao parasito, característica específica destes leucócitos (BUTTERWORTH & DAVID, 1981).

O núcleo cristalóide do grânulo é composto pela proteína básica principal (MBP - "major basic protein") e a matriz não nuclear contém a proteína catiônica eosinofílica (ECP - "eosinophil cationic protein"). A MBP é a proteína eosinofílica mais abundante e é tóxica aos helmintos e células tumorais. A ECP também possui atividade helmintotóxica. A enzima peroxidase eosinofílica, na presença de peróxido de hidrogênio, é também tóxica aos

helmintos e protozoários. Por estas razões, os eosinófilos são capazes de eliminar um grande número de helmintos, especialmente os seus estágios larvais (WELLER, 1991).

As infecções parasitárias estão associadas com um aumento no número de eosinófilos e IgE circulante (ROITT, BROSTOFF & MALE, 1998) e estimulam vários mecanismos imunológicos de defesa, mediados por anticorpos e por células. As respostas são mais efetivas dependendo do parasita e do estágio da infecção (JAIN, 1993).

Os eosinófilos possuem receptores de superfície para IgE, componentes do complemento  $C_1$ ,  $C_{3b}$ ,  $C_{3d}$  e  $C_4$ , glicocorticóides e histamina. O efeito eosinofilotático dos complexos antígeno-anticorpo é mediado pela ativação dos componentes do complemento ( $C_{3a}$ ,  $C_{5a}$  e  $C_{567}$ ). A degranulação dos mastócitos e dos basófilos pela ativação imunológica (interação de IgE de superfície com antígeno específico) ou por mecanismos não imunológicos é acompanhada pela liberação de várias substâncias (ECF-A, histamina, peptídeos de peso molecular intermediário e produtos do metabolismo do ácido aracdônico) capazes de atrair os eosinófilos (JAIN, 1986).

Acredita-se que os eosinófilos tenham papel especializado na imunidade contra parasitas, atraindo larvas cobertas com IgG e IgE (ROITT, BROSTOFF & MALE, 1998).

A eosinofilia, caracterizada por produção de eosinófilos na medula óssea e pelo acúmulo de eosinófilos nos tecidos e no sangue, está associada com processos patogênicos distintos que incluem infecções parasitárias por helmintos, doenças alérgicas e outras doenças com causas menos definidas (WELLER, 1991).

Segundo JAIN (1993), a eosinofilia, na maior parte dos casos, como no parasitismo, provavelmente resulta do aumento de produção dos eosinófilos e de sua liberação pela medula óssea. O aumento da produção de eosinófilos ocorre pelo estímulo dos antígenos parasitários no sistema linfóide. Na resposta imune, os linfócitos estimulados produzem EO-GSF (fator

estimulador do crescimento de eosinófilos) para promover a eosinofiloiose. O aumento da liberação dos eosinófilos pela medula óssea ocorre pela interação do antígeno do parasita, IgE e mastócitos, que induzem a liberação do fator quimiotático eosinofílico da anafilina (ECFA) e da histamina dos mastócitos. Estas substâncias são altamente quimiotáticas para os eosinófilos, promovendo a eosinofilia sanguínea e tecidual. No parasitismo, o aumento da produção e da liberação dos eosinófilos pela medula óssea ocorrem somente quando há sensibilidade à proteína do parasita e liberação dos produtos dos parasitas para o início das respostas.

## **2.5. Proteínas plasmáticas**

As proteínas plasmáticas são um grupo de moléculas heterogêneas com várias características e funções. A concentração de proteína no plasma depende do equilíbrio hormonal, estado nutricional e outros fatores que afetam o estado de saúde do animal (JAIN, 1986). As infecções parasitárias nos ruminantes provocam alterações importantes nas proteínas plasmáticas, além da perda sanguínea e, conseqüentemente, anemia. O *Haemonchus contortus* e *Ostertagia sp* levam o animal a uma hipoproteinemia nutricional causada pela diminuição no consumo de água e alimentos. Pode ocorrer também perda de proteínas a partir das lesões que os parasitos provocam no abomaso (JAIN, 1993).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Animais

Utilizaram-se ovinos mestiços pertencentes ao rebanho do Quartel General da 5ª Região Militar em Curitiba, sendo 22 ovelhas e 26 cordeiros, filhos dessas ovelhas, com datas de nascimento entre 22 de maio e 8 de agosto de 1998 (anexo Tabela 30). As ovelhas e os cordeiros foram desverminados em 6 de outubro de 1998, com moxidectin 200 µg/kg. O tratamento antihelmíntico foi realizado objetivando-se o acompanhamento dos animais em condições semelhantes de parasitose, apesar do número baixo de ovos por grama de fezes (opg). Nesta data os cordeiros foram desmamados e pesados, com o início dos exames hematológicos.

Os cordeiros permaneceram constantemente com as ovelhas nas mesmas pastagens, submetidos à infecção natural. Os animais permaneceram em pastagem de capim nativo, das 07:00 às 12:00 horas, e das 13:00 às 17:00 horas, soltos nos mesmos piquetes. À tarde, quando eram recolhidos ao aprisco, recebiam uma pequena quantidade de ração (aproximadamente 100g/cabeça).

A duração do experimento foi de onze meses (julho de 1998 a 25 de maio de 1999), com acompanhamento mensal das ovelhas e quinzenal dos cordeiros até março de 1999. A partir de abril de 1999 o acompanhamento dos cordeiros foi mensal.

### **3.2. Metodologia da colheita de fezes**

Durante o experimento foram realizados exames coproparasitológicos de todos os animais. As colheitas de fezes foram realizadas individualmente, da ampola retal, com sacos plásticos. Após a identificação, as amostras foram acondicionadas em isopor e levadas ao laboratório, onde eram processados os exames parasitológicos. Foram realizadas 15 colheitas dos cordeiros e 9 colheitas das ovelhas.

### **3.3. Exames parasitológicos**

#### **3.3.1. Exame de fezes**

O número de ovos por grama de fezes (opg) foi determinado segundo o método de GORDON & WHITLOCK (1939), sensível para 100 opg. Trata-se de um método quantitativo e tem como princípio a flutuação de ovos leves de helmintos em solução saturada de cloreto de sódio, usando câmara de McMaster, cujos dois retículos são contados ao microscópio óptico, no aumento de 100 vezes.

O segundo método utilizado foi o de WILLIS & MOLLAY (HOFFMANN, 1987), um exame qualitativo fundamentado na flutuação de ovos leves. Para o cálculo do opg, as amostras negativas no exame quantitativo, mas positivas no qualitativo, foram consideradas como positivas e atribuiu-se o valor de 100 opg (URHQUART *et al.*, 1998).

#### **3.3.2. Cultura de larvas**

As culturas de larvas foram realizadas segundo o método de ROBERTS & O'SULLIVAN (1950). Para a identificação das larvas foram utilizadas chaves de KEITH (1953),

UENO & GONÇALVES (1989). Os exames foram realizados a partir de um "pool" de amostras de fezes. O "pool" de amostras foi triturado, misturado a uma quantidade de cepilho (50/50), incubado por 15 dias e umedecido diariamente.

Para as ovelhas, para as culturas de larvas, as amostragens foram obtidas nas colheitas dos meses de julho, setembro e outubro de 1998, março e maio de 1999. Para os cordeiros, as culturas foram realizadas em todas as colheitas.

### **3.4. Metodologia da colheita de sangue**

#### **3.4.1. Colheita de sangue das ovelhas**

As colheitas de sangue foram realizadas mensalmente, através de venopunção da jugular externa, em tubos de vacutainer com capacidade para quatro ml de sangue, contendo o EDTA 15% (ácido etilenodiamino tetracético) como anticoagulante, ideal para estudos da morfologia sanguínea (JAIN, 1986).

As colheitas foram feitas no período da tarde, todas no mesmo horário, como recomendado por JAIN (1993). Na sequência, as amostras eram homogenizadas, identificadas, acondicionadas em isopor e enviadas ao laboratório para a realização dos seguintes exames:

- a) contagem de eritrócitos;
- b) determinação do hematócrito;
- c) determinação da concentração de hemoglobina;
- d) contagem de leucócitos;
- e) contagem de eosinófilos;
- f) determinação da proteína plasmática total.

### **3.4.2. Colheita de sangue dos cordeiros**

As colheitas de sangue foram feitas com intervalos de quatorze dias no período de 6 de outubro de 1998 até março de 1999. A partir de abril de 1999 as colheitas foram mensais, totalizando 15. A metodologia de colheita foi a mesma empregada para as ovelhas.

### **3.5. Determinação dos valores hematológicos**

Os métodos realizados para a contagem de eritrócitos, leucócitos, determinação do hematócrito, determinação da concentração de hemoglobina e da proteína plasmática total, foram de rotina, segundo JAIN (1986).

#### **3.5.1. Contagem de eritrócitos**

A contagem de eritrócitos foi realizada pelo método de diluição (1:400) em tubo e contagem em hemocítômetro.

#### **TÉCNICA:**

1. Diluição: 8 ml de solução fisiológica e 0,02 ml da amostra de sangue, diluídos em tubo de ensaio.
2. Contagem: preencher a câmara de Neubauer e na objetiva de 40x, contar os cinco quadrantes do retículo de contagem de eritrócitos. O número de eritrócitos contados é multiplicado por 20.000 (fator de diluição e fator da câmara), obtendo-se o número total de eritrócitos.



### **3.5.2. Contagem de leucócitos:**

A contagem de leucócitos foi realizada pelo método de diluição em tubo (1:20) e contagem na câmara de Neubauer.

#### **TÉCNICA:**

1. Diluição: 0,4 ml de solução de ácido acético 4% e 0,02 ml da amostra de sangue.
2. Contagem: preencher a câmara de Neubauer e na objetiva de 10x, contar os quatro quadrantes do retículo de leucócitos. O número de leucócitos totais é obtido multiplicando-se o número de leucócitos contados por 50 (fator de diluição e fator da câmara), obtendo-se o número total de leucócitos.

### **3.5.3. Micro-hematócrito:**

Consiste na separação do sangue em três partes: volume dos eritrócitos, volume dos leucócitos e plaquetas, e plasma. O hematócrito mede a percentagem de sangue ocupada por eritrócitos.

#### **TÉCNICA:**

1. Após a homogeneização das amostras, os tubos capilares foram preenchidos com sangue até aproximadamente dois terços do seu volume.
2. Centrifugação das amostras por 10 minutos em microcentrífuga
3. A leitura é realizada por comparação, utilizando-se um cartão de leitura para microhematócrito.

### 3.5.4. Determinação da concentração de hemoglobina:

A dosagem da hemoglobina circulante é medida em g/dl, utilizando-se o método da cianometahemoglobina, com auxílio de kit comercial<sup>1</sup> específico. Este método consiste de um reagente de cor (reagente de Drabkin) e de um padrão de hemoglobina, utilizado para calcular a curva de calibração. Este método tem como princípio a oxidação do átomo de ferro (ferro II) da molécula de hemoglobina pelo ferricianeto de potássio em pH fracamente alcalino, formando a metahemoglobina que é convertida em cianometahemoglobina após a reação com o cianeto de potássio. A coloração avermelhada é proporcional à concentração de hemoglobina presente na amostra, com leitura em 500 a 540 nm ou em filtro verde.

#### TÉCNICA:

1. Preparação do reagente de cor e o fator de calibração da solução foi calculado através da fórmula abaixo, sendo a absorbância do padrão obtida pela média de três avaliações:

$$\text{Fator de calibração} = \frac{\text{Concentração do padrão}}{\text{Média da absorbância do padrão}}$$

2. Colocar 5 ml da solução do reagente de cor em um tubo de ensaio, adicionar 0,02 ml da amostra de sangue. Homogeneizar.

3. Deixar a solução em repouso por cinco minutos para que ocorra a reação.

4. A leitura foi feita em um Colorímetro Fotoelétrico<sup>2</sup>, no filtro verde (que equivale a 540 nm), acertando o zero com o reagente de cor.

<sup>1</sup> Kit Bioclin® Hemoglobina/Padrão de Hemoglobina - Quibasa - Química Básica, LTDA.

<sup>2</sup> Colorímetro Fotoelétrico Metronic Modelo M2.

5. Os dados obtidos em porcentagem de transmitância (T) eram convertidos para o valor de absorbância por meio de uma tabela de conversão T-A.

6. O cálculo da concentração de hemoglobina da amostra, em g/dl, foi feito da seguinte forma:

$$\text{Concentração da amostra (g/dl)} = \text{Absorbância do teste} \times \text{Fator de calibração}$$

### **3.5.5. Proteínas plasmáticas totais:**

Foram estimadas pelo refratômetro<sup>3</sup> que é utilizado para medida acurada e simples dos sólidos totais do sangue. O refratômetro contém uma escala direta para leitura da proteína total no plasma. Coloca-se uma gota de plasma na plataforma do aparelho e faz-se a leitura pelo "eyepice" com luz natural ou artificial. A leitura é realizada no ponto onde há divisão de linha entre os campos claros e escuro.

### **3.5.6. Contagem de Eosinófilos**

A contagem de eosinófilos foi realizada pelo método direto, segundo LIMA *et al* (1985). A contagem direta na câmara de Fuchsrosenthal foi o método de escolha, por ser mais exato e porque a câmara comporta maior volume (3,2 mm<sup>3</sup>). Este método consiste na utilização de líquidos de diluição-coloração. Sua composição é baseada nas propriedades específicas de coloração das granulações eosinofílicas e na maior resistência dos eosinófilos à lise, em relação as demais células sanguíneas.

---

<sup>3</sup> Refratômetro de Goldberg (TS Meter) SCHUCO, Japão.

O diluidor usado foi o de Pilot Modificado (MacFARLANE e CECIL, 1951), que cora somente os eosinófilos (pela eosina), lisando ou reduzindo a fragmentos os eritrócitos (pelo propilenoglicol) e os demais leucócitos (pelo carbonato de cálcio).

A fórmula do diluidor de Pilot Modificado é:

Eosina a 1%	10,0 ml
Propilenoglicol	50,0 ml
Carbonato de sódio a 10%	1,0 ml
Água destilada	40,0 ml

#### TÉCNICA

1. Homogeneização da amostra;
2. Em um tubo de ensaio, pipeta-se 0,38 ml do diluidor e acrescenta-se 0,02 ml da amostra de sangue (diluição 1:20). Agitar suavemente para evitar a destruição dos eosinófilos.
3. Preencher a câmara de Fuchsrosenthal, que deve permanecer em repouso de 15 a 30 minutos, dentro de câmara úmida.
4. A leitura é feita em microscópio ótico com aumento de 400x, contando-se os dois retículos da câmara. O cálculo do número de eosinófilos, por milímetro cúbico de sangue, é feito utilizando-se a fórmula abaixo:

$$\text{Número de eosinófilos (/mm}^3\text{)} = (\text{média dos dois retículos} \times 20) / 3,2$$

### **3.6. Análise estatística**

Para a seleção dos animais em resistentes e susceptíveis, considerando todos os parâmetros avaliados, foi utilizada a análise de cluster. Na análise de cluster, as unidades são representadas pelos animais (ovelhas e cordeiros) e os caracteres (opg, hematócrito, concentração de hemoglobina, contagem total de eritrócitos, contagem total de leucócitos, contagem de eosinófilos e proteínas plasmáticas totais) foram submetidos a um processo de análise de agrupamento. O agrupamento foi feito com base na similaridade ou na distância. Os resultados são dispostos graficamente em um diagrama em árvore, ou dendograma, com uma escala para se observar os níveis de agrupamento. Foram utilizadas ligações completas e a distância euclidiana. Para a comparação das médias de opg, hematócrito, concentração de hemoglobina, contagem total de eritrócitos, contagem total de leucócitos, contagem de eosinófilos e proteínas plasmáticas totais dos grupos de animais considerados resistentes ou susceptíveis pelas diferentes hipóteses, utilizou-se o Teste T de Student.

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Ovelhas

#### 4.1.1. Exames coproparasitológicos

As ovelhas foram acompanhadas através de exames coproparasitológicos realizados no período de julho de 1998 a maio de 1999, totalizando 15 análises.

Nos exames de fezes foram observados ovos de tipo strongiliformes, *Strongyloides papillosus* (Wedl, 1856), *Nematodirus sp.*, *Moniezia expansa* (Rudolphi, 1810) e oocistos de *Eimeria sp.* (Figura 1)

Para *Moniezia expansa* foi considerada apenas a presença ou ausência de ovos, uma vez que, por serem cestódeos, não há uma correlação direta entre o número de ovos observados e o grau de infecção. Durante o experimento, pode-se observar que este parasito esteve presente apenas nos meses de outubro, novembro e dezembro de 1998 e março de 1999, com baixo percentual do rebanho parasitado. (Tabela 01)

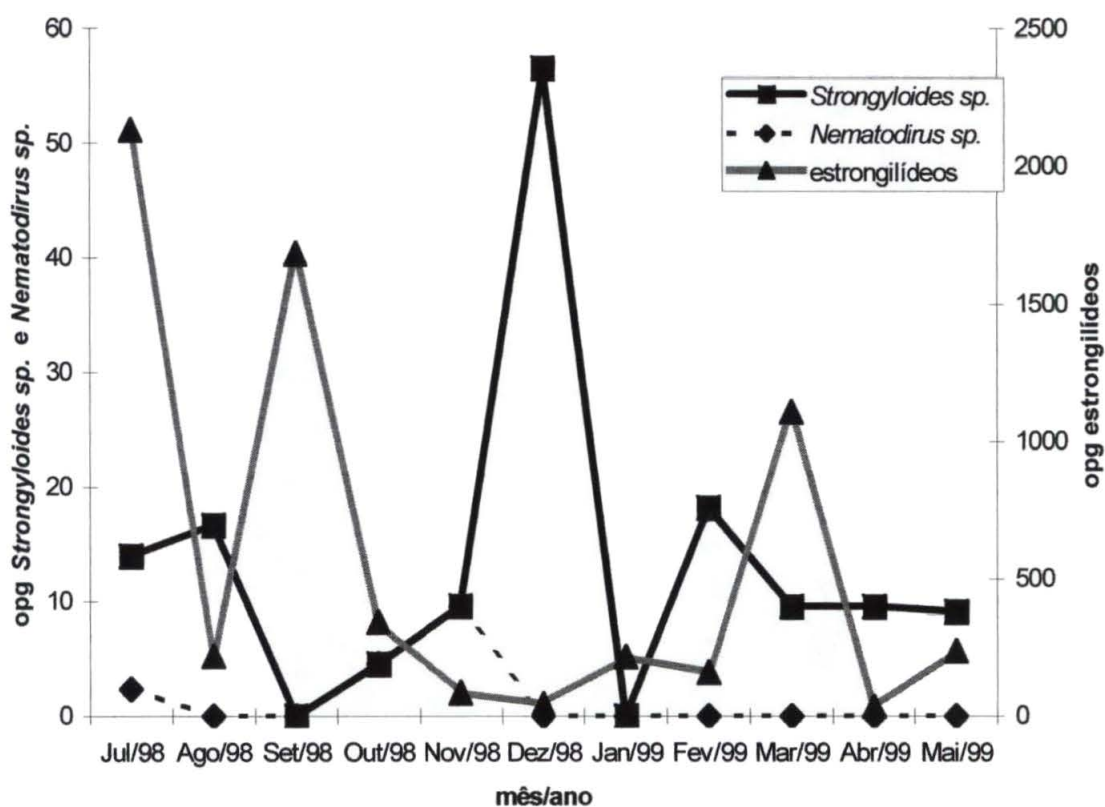
Para os oocistos de *Eimeria sp.*, da mesma forma, foi considerada presença ou ausência. A porcentagem do rebanho positivo foi baixa durante todo o experimento, o que demonstra não representar problema para esta categoria de animais. Todavia, as ovelhas podem servir de fonte de contaminação para os cordeiros, categoria muito mais susceptível (Tabela 01).

Ovos de *Strongyloides papillosus* foram observados em todas as análises realizadas. Porém, com maior eliminação no mês de dezembro de 1998.

Em relação aos ovos de *Nematodirus sp.*, foram observados em outubro e novembro de 1998, com baixa frequência na população de animais adultos. Como este parasito pertence à

superfamília *Strongyloidea*, família *Trichostrongylidae*, para as demais análises, eles foram incluídos na categoria de ovos de tipo estrongiliforme.

Ovos de tipo estrongiliforme foram observados em 14 das 15 análises realizadas (Figura 2). Ao analisar todos os exames realizados, observa-se que o número de ovos de helmintos por grama de fezes (opg) variou de 0 a 10400 opg (Tabela 02).



**Figura 1:** Média de ovos de helmintos por grama de fezes das ovelhas adultas, durante o período de julho de 1998 a maio de 1999.

**Tabela 01:** Percentual de ovelhas parasitadas com ovos de *Moniezia expansa* e oocistos *Eimeria sp.* no período de outubro de 1998 a maio de 1999.

Datas colheitas	<i>Moniezia expansa</i> (%)	<i>Eimeria sp</i> (%)
06/10/98	9,09	4,55
10/11/98	4,55	0,00
08/12/98	9,09	9,09
05/01/99	0,00	4,55
02/02/99	0,00	27,27
02/03/99	4,55	27,27
30/03/99	0,00	31,82
27/04/99	0,00	9,09
25/05/99	0,00	4,55

Observam-se três picos de eliminação de ovos de estrongilídeos que correspondem aos meses de julho e setembro de 1998 (inverno) e março de 1999 (no início do outono) (Tabela 02 e Figura 2).

**Tabela 02-** Média de ovos do tipo estrongiliforme por grama de fezes (opg) das 22 ovelhas examinadas oriundas de um rebanho da região de Curitiba, Pr.

Colheita	Data	Média	Valor mínimo	Valor máximo
1	06/07/98	2130,95 <sup>a</sup>	-	-
2	21/07/98	1900,00 <sup>a</sup>	-	-
3	05/08/98	216,60 <sup>b</sup>	-	-
4	02/09/98	1683,33 <sup>a</sup>	-	-
5	16/09/98	18,18 <sup>b</sup>	-	-
6	06/10/98	340,90 <sup>b</sup>	-	-
7	13/10/98	140,90 <sup>b</sup>	0	1800
8	10/11/98	0,00 <sup>b</sup>	0	0
9	08/12/98	22,72 <sup>b</sup>	0	100
10	05/01/99	209,09 <sup>b</sup>	0	2200
11	02/02/99	140,90 <sup>b</sup>	0	700
12	02/03/99	177,27 <sup>b</sup>	0	1300
13	30/03/99	1931,81 <sup>a</sup>	0	10400
14	27/04/99	31,81 <sup>b</sup>	0	100
15	25/05/99	150,00 <sup>b</sup>	0	1600

Letras diferentes indicam diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ).

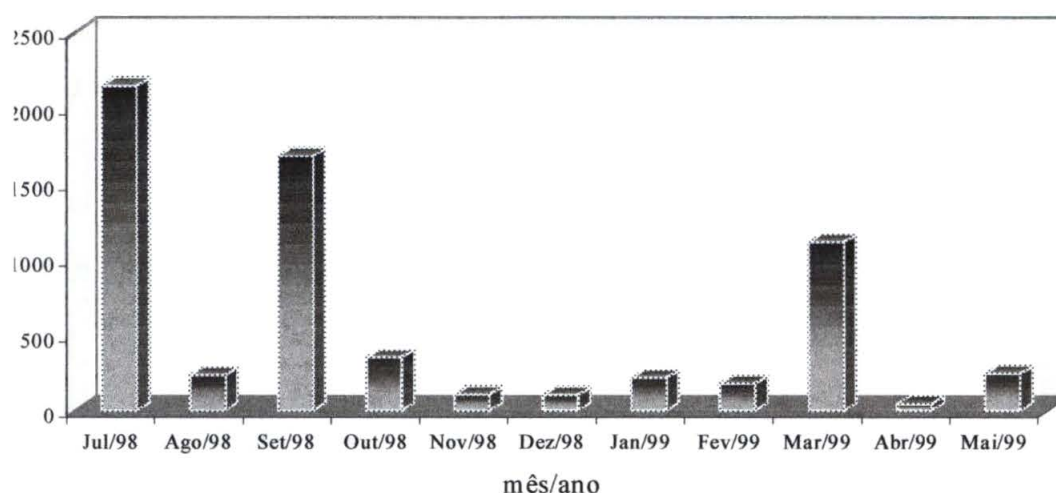


A primeira fase do experimento corresponde às colheitas de um a cinco em que os exames foram realizados de um “pool” de fezes, correspondente a 20% do rebanho das ovelhas, por esta razão, não foram anotados os valores mínimos e máximos de opg para este período (Tabela 02).

Observou-se diferença significativa entre as colheitas de agosto e setembro de 1998. Como o período de parto das ovelhas foi prolongado (de 22 de maio a 08 de agosto de 1998) (anexo Tabela 30), justifica-se o aumento observado em julho e setembro. Esses aumentos podem ter sido influenciados por uma associação de fatores como: pós-parto, lactação, “spring-rise”, todos eles contribuindo simultaneamente para a infecção de nova categoria de animais (cordeiros), altamente susceptível (KERBOUEF, 1978; SOTOMAIOR, 1997). Por esta razão, foi realizada a desverminação das 22 ovelhas com 7,5 mg de cloridrato de levamisol por kg de peso vivo, no dia 22/07/98. A média de opg encontrada pós-tratamento foi de 216,6, o que resultou em um percentual de redução de opg de 88,60%.

Na quarta colheita (02/09/98) houve um novo aumento da eliminação de ovos de helmintos. Foi realizada nova desverminação das 22 ovelhas com 200 µg de moxidectin por kg de peso vivo. O percentual de redução de opg encontrado foi de 98,9%.

Apesar do número de opg ser baixo em 6/10/98, foi realizada uma outra desverminação das 22 ovelhas com 200 µg de moxidectin por kg de peso vivo, objetivando-se o acompanhamento dos animais em condições semelhantes de parasitose para o início dos exames hematológicos.



**Figura 2:** Média de ovos estrongiliformes em ovelhas adultas, durante o período de julho de 1998 a maio de 1999.

Em 6/04/99, as 22 ovelhas foram desverminadas com 200  $\mu$ g de moxidectin por kg de peso vivo. O percentual de redução obtido foi de 99,26%, como observado na colheita número quatorze com a média de opg de 31,81.

Portanto, durante todo o experimento as ovelhas foram desverminadas quatro vezes e ficaram sem ser desverminadas de outubro de 1998 até o mês de abril de 1999, completando um período de seis meses. Isso demonstra que o esquema mensal de aplicação de vermífugos, altamente difundido na ovinocultura paranaense, é desnecessário para animais adultos. No presente estudo, verificou-se que os maiores cuidados devem ser tomados no período pós-parto e no outono, antes da cobertura das ovelhas.

#### 4.1.2. Cultura de larvas

Com o objetivo de conhecer a fauna parasitária foram realizadas culturas de larvas a partir de “pool” de fezes das ovelhas nos meses de julho, setembro e outubro de 1998, março e maio de 1999. Para estabelecer o percentual de larvas encontradas, foram contados um total

de 100 espécimes. Verificou-se que *Haemonchus sp.* e *Trichostrongylus sp.* associados correspondem a 82,08% das infecções. Os outros seis gêneros totalizaram 17,92% (Tabela 03 e Figura 3).

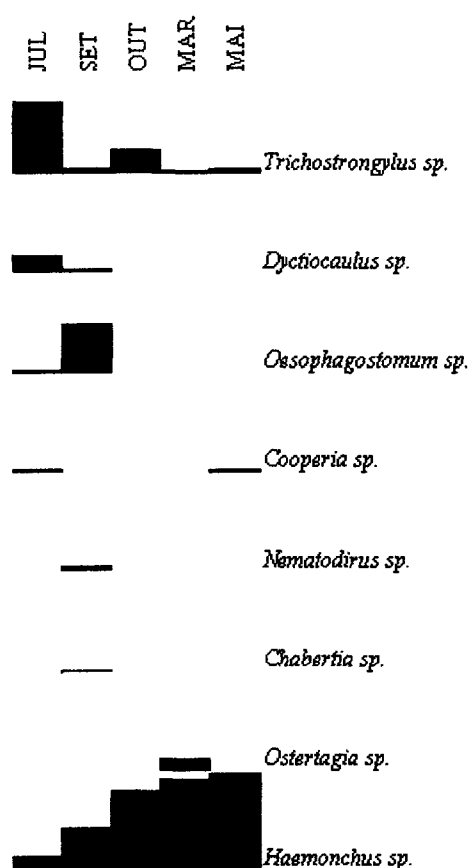
**Tabela 03** - Resultados médios das culturas de larvas das ovelhas realizadas nos períodos de julho, setembro e outubro de 1998, março e maio de 1999.

Parasitas	Percentual (%)
<i>Haemonchus sp.</i>	61,92
<i>Trichostrongylus sp.</i>	20,16
<i>Oesophagostomum sp.</i>	9,94
<i>Dyctiocaulus sp.</i>	3,84
<i>Ostertagia sp.</i>	2,20
<i>Nematodirus sp.</i>	1,00
<i>Cooperia sp.</i>	0,94
<i>Chabertia sp.</i>	0,20
Total	100,00

#### 4.1.3. Hematócrito

Foi realizado o hematócrito individual para cada colheita das 22 ovelhas (anexo: Tabela d). Foram analisados os valores médios, mínimos e máximos do hematócrito de todas as colheitas de sangue. Os valores médios variaram de 30,4% a 32,5%. Os valores mínimos oscilaram entre 19,0% e 28,0%, enquanto que os valores máximos se encontraram entre 34,0% e 39,0% (Tabela 04).

Há uma diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre a média da 13ª colheita e as outras, indicando que a queda no valor do hematócrito é reflexo direto do aumento do parasitismo (Tabela 04 e Figura 1).



**Figura 3:** Gêneros de estrongilídeos encontrados nas culturas de larvas das ovelhas durante o período de julho de 1998 a maio de 1999.

**Tabela 04:** Valores médios, mínimos e máximos do hematócrito (%) de todas as colheitas de sangue das 22 ovelhas.

Colheita	Data	Média (%)	Valor mínimo (%)	Valor máximo (%)
7	13/10/98	31,6 <sup>b</sup>	27,0	36,0
8	10/11/98	31,6 <sup>b</sup>	27,0	37,0
9	08/12/98	30,8 <sup>a</sup>	28,0	34,0
10	05/01/99	32,1 <sup>b</sup>	28,0	37,0
11	02/02/99	30,7 <sup>b</sup>	19,0	36,0
12	02/03/99	32,0 <sup>b</sup>	28,0	35,0
13	30/03/99	30,4 <sup>a</sup>	22,0	38,0
14	27/04/99	32,5 <sup>b</sup>	28,0	39,0
15	25/05/99	32,1 <sup>b</sup>	28,0	38,0

Letras diferentes indicam diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ).

Os valores considerados normais para os ovinos variam de 27 a 45% (JAIN, 1993). Somente nas colheitas 11 e 13 alguns animais apresentaram valores de hematócrito inferiores aos considerados normais para a espécie ovina. Na colheita que corresponde ao pico de infecção parasitária (colheita 13), quatro animais apresentaram valores de hematócrito diminuído, o que representa 18,18% do rebanho das ovelhas (anexo Tabela 33).

Há uma correlação negativa entre o número de ovos de helmintos por grama de fezes (opg) e o valor do hematócrito, pois quanto maior o valor de opg, menor o valor do hematócrito.

#### **4.1.4. Concentração de hemoglobina**

Foi realizada a determinação da concentração de hemoglobina para as nove colheitas de sangue deste experimento. Quando considerados os valores médios para as 22 ovelhas, observa-se que houve uma variação de 10,70 g/dl a 12,30 g/dl. Em relação aos valores mínimos e máximos, estes oscilaram entre 8,14 g/dl e 10,56g/dl, 12,72 g/dl e 14,50 g/dl, respectivamente (Tabela 05).

A análise das colheitas em relação à concentração de hemoglobina demonstra que há uma diferença significativa nas colheitas 8, 10, 11 e 15. Entretanto, os valores médios da concentração de hemoglobina destas colheitas apresentaram-se dentro dos valores de referência para os ovinos (anexo Tabela 31). Em cada uma destas colheitas, apenas dois animais apresentaram valores da concentração de hemoglobina diminuídos (anexo Tabela 35).

**Tabela 05:** Valores médios, mínimos e máximos da concentração de hemoglobina de todas as colheitas de sangue, das 22 ovelhas.

Colheita	Data	Média (g/dl)	Valor mínimo (g/dl)	Valor máximo (g/dl)
7	13/10/98	11,48 <sup>b</sup>	9,36	13,45
8	10/11/98	11,34 <sup>b</sup>	9,31	12,99
9	08/12/98	12,30 <sup>b</sup>	10,56	14,50
10	05/01/99	10,84 <sup>a</sup>	8,69	12,83
11	02/02/99	10,90 <sup>a</sup>	8,14	12,83
12	02/03/99	11,68 <sup>b</sup>	8,96	13,97
13	30/03/99	10,96 <sup>a</sup>	8,53	14,16
14	27/04/99	11,43 <sup>b</sup>	9,08	13,76
15	25/05/99	10,70 <sup>a</sup>	9,46	12,72

Letras diferentes indicam diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ).

#### 4.1.5. Contagem total de eritrócitos

Foi realizada a contagem total de eritrócitos para cada ovelha em todas as colheitas. Os valores médios ficaram entre  $8,01 \times 10^6/\mu\text{l}$  e  $11,19 \times 10^6/\mu\text{l}$ . Os valores mínimos oscilaram entre  $6,00 \times 10^6/\mu\text{l}$  e  $8,70 \times 10^6/\mu\text{l}$ , enquanto que os valores máximos variaram entre  $9,20 \times 10^6/\mu\text{l}$  e  $17,82 \times 10^6/\mu\text{l}$  (Tabela 06).

Na análise dos valores médios da contagem total de eritrócitos de todas as colheitas de sangue, observou-se diferença significativa ( $p < 0,05$ ) nas colheitas 8, 11, 12, 13, 14 e 15.

Em relação às colheitas 8 e 11, os valores da contagem total de eritrócitos estavam situados dentro dos considerados normais para a espécie ovina (anexo Tabela 31). As colheitas 14 e 15 apresentaram os menores valores médios, mas nenhum animal apresentou valor inferior ao de referência (anexo Tabela 36).

**Tabela 06:** Valores médios, mínimos e máximos das contagens totais de eritrócitos, de todas as colheitas de sangue, das 22 ovelhas.

Colheita	Data	Média (x10 <sup>6</sup> /μl)	Valor mínimo (x10 <sup>6</sup> /μl)	Valor máximo (x10 <sup>6</sup> /μl)
7	13/10/98	10,74 <sup>b</sup>	7,20	17,82
8	10/11/98	9,73 <sup>a</sup>	6,26	12,40
9	08/12/98	11,19 <sup>b</sup>	8,70	14,96
10	05/01/99	11,08 <sup>b</sup>	8,06	17,00
11	02/02/99	9,46 <sup>a</sup>	7,32	12,60
12	02/03/99	9,38 <sup>a</sup>	6,60	12,94
13	30/03/99	9,65 <sup>a</sup>	6,40	15,00
14	27/04/99	8,12 <sup>a</sup>	6,40	9,20
15	25/05/99	8,01 <sup>a</sup>	6,00	10,54

Letras diferentes indicam diferença estatística significativa (p< 0,05)

#### 4.1.6. Contagem total de leucócitos

Foram realizadas as contagens totais de leucócitos, para cada ovelha, em todas as colheitas de sangue. Os valores médios encontrados variaram entre 4636,3/μl e 7940, 9/μl. Os valores mínimos e máximos oscilaram entre 2100,0/μl e 4800,0/μl; 6500,0/μl e 13800,0/μl, respectivamente (Tabela 07).

Na colheita 15, sete animais apresentaram valores de leucócitos totais inferiores aos de referência para a espécie ovina (anexo Tabela 31), com a menor média e com os menores valores mínimos de todas as colheitas.

**Tabela 07:** Valores médios, mínimos e máximos da contagem total de leucócitos de todas as colheitas de sangue, das 22 ovelhas.

Colheita	Data	Média (/ $\mu$ l)	Valor mínimo (/ $\mu$ l)	Valor máximo (/ $\mu$ l)
7	13/10/98	5209,0 <sup>a</sup>	3500,0	9300,0
8	10/11/98	5772,7 <sup>a</sup>	3300,0	9400,0
9	08/12/98	7236,3 <sup>b</sup>	4800,0	13800,0
10	05/01/99	7940,9 <sup>b</sup>	4400,0	11600,0
11	02/02/99	6131,8 <sup>a</sup>	3600,0	9400,0
12	02/03/99	5731,8 <sup>a</sup>	4000,0	7600,0
13	30/03/99	5427,2 <sup>a</sup>	3400,0	8300,0
14	27/04/99	5809,0 <sup>a</sup>	4200,0	9600,0
15	25/05/99	4636,3 <sup>a</sup>	2100,0	6500,0

Letras diferentes indicam diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ).

#### 4.1.7. Proteínas plasmáticas totais

Foram determinadas as concentrações de proteínas plasmáticas das 22 ovelhas em todas as colheitas. As concentrações médias oscilaram entre 5,7 g/dl e 6,5 g/dl. Os valores mínimos variaram entre 4,8 g/dl e 6,0 g/dl, enquanto que os valores máximos ficaram entre 6,6 g/dl e 7,2 g/dl.

Os valores de referência de proteínas plasmáticas totais variam de 6,0 a 7,5 g/dl para a espécie ovina. Na colheita que corresponde ao pico de parasitismo (30/03/99), há uma diferença significativa ( $p < 0,05$ ) do valor médio das proteínas plasmáticas totais em relação às outras colheitas (Tabela 08). Nesta colheita, dez animais apresentaram valores de proteínas plasmáticas totais diminuídos (anexo Tabela 38).



**Tabela 8:** Valores médios, mínimos e máximos das concentrações de proteínas plasmáticas totais de todas as colheitas de sangue, das 22 ovelhas.

Colheita	Data	Média (g/dl)	Valor mínimo (g/dl)	Valor máximo (g/dl)
7	13/10/98	5,7 <sup>a</sup>	5,4	6,6
8	10/11/98	6,5 <sup>b</sup>	6,0	7,4
9	08/12/98	6,2 <sup>b</sup>	5,8	7,2
10	05/01/99	6,4 <sup>b</sup>	6,0	7,0
11	02/02/99	6,2 <sup>b</sup>	5,8	7,0
12	02/03/99	6,2 <sup>b</sup>	5,6	6,8
13	30/03/99	5,9 <sup>a</sup>	4,8	7,0
14	27/04/99	6,1 <sup>b</sup>	5,8	6,6
15	25/05/99	6,0 <sup>b</sup>	5,6	6,6

Letras diferentes indicam diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ).

#### 4.1.8. Contagem de eosinófilos

Foi realizada a contagem de eosinófilos para cada ovelha em todas as colheitas de sangue. A contagem média de eosinófilos situou-se entre  $301,70/\text{mm}^3$  e  $777,12/\text{mm}^3$ . Os valores mínimos oscilaram entre  $87,5/\text{mm}^3$  e  $231,25/\text{mm}^3$ , enquanto que os valores máximos variaram entre  $615,62/\text{mm}^3$  e  $2218,75/\text{mm}^3$  (Tabela 09).

Na análise das médias de cada colheita, observou-se diferença significativa ( $p < 0,05$ ) somente na última colheita, quando a maior parte dos animais apresentou contagens de eosinófilos menores em relação às outras colheitas (anexo Tabela 34).

**Tabela 09:** Valores médios, mínimos e máximos da contagem de eosinófilos de todas as colheitas de sangue, das 22 ovelhas.

Colheita	Data	Média (/mm <sup>3</sup> )	Valor mínimo (/mm <sup>3</sup> )	Valor máximo (/mm <sup>3</sup> )
7	13/10/98	601,41 <sup>b</sup>	206,25	1193,80
8	10/11/98	777,12 <sup>b</sup>	159,37	1718,75
9	08/12/98	579,40 <sup>b</sup>	134,38	1228,13
10	05/01/99	666,90 <sup>b</sup>	87,5	2218,75
11	02/02/99	594,45 <sup>b</sup>	165,62	1134,37
12	02/03/99	508,80 <sup>b</sup>	193,75	878,12
13	30/03/99	411,50 <sup>b</sup>	156,25	806,25
14	27/04/99	513,77 <sup>b</sup>	231,25	1003,12
15	25/05/99	301,70 <sup>a</sup>	78,12	615,62

Letras diferentes indicam diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ).

## 4.2. Cordeiros

### 4.2.1. Exames coproparasitológicos

Para verificar a carga parasitária, os cordeiros foram acompanhados através de exames coproparasitológicos no período compreendido entre julho de 1998 a maio de 1999, totalizando 20 análises.

Foram observados ovos de *Moniezia expansa*, oocistos de *Eimeria sp.*, ovos de *Strongyloides papillosus*, *Nematodirus sp.* e ovos de tipo estrongiliforme.

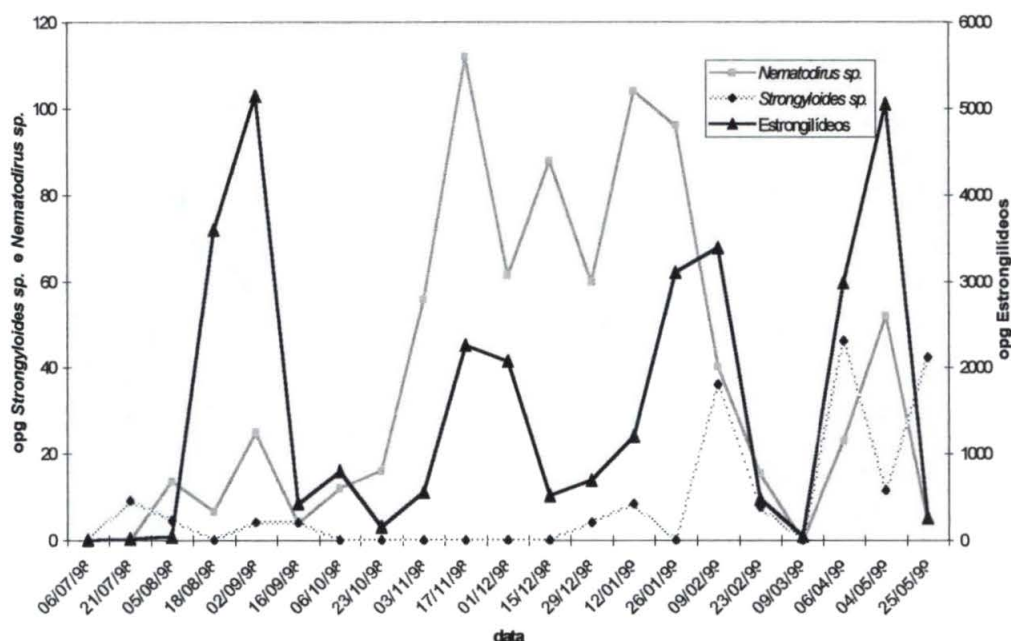
Para *Moniezia expansa* foi considerada apenas a presença ou ausência de ovos, uma vez que, por serem cestódeos, não há uma correlação direta entre o número de ovos observados e o grau de infecção. Este parasito esteve presente em todos os meses do experimento, com alto percentual do rebanho parasitado (Tabela 10).

Para a os oocistos de *Eimeria sp.* também foi considerada a presença ou ausência. Com exceção do mês de março de 1999, este parasito esteve presente em todos os outros períodos do experimento. A porcentagem do rebanho positivo foi alta durante os meses de outubro, novembro e dezembro de 1998 e nos meses de janeiro, fevereiro e abril de 1999 (Tabela 10). Estes resultados demonstram que os cordeiros são a categoria mais susceptível a esta protozoose e que estes animais tiveram as ovelhas como fonte de contaminação.

**Tabela 10:** Relação do percentual do rebanho de cordeiros parasitados com *Moniezia expansa* e *Eimeria sp.* durante o período experimental.

Datas colheitas	<i>Moniezia expansa</i> (%)	<i>Eimeria sp</i> (%)
06/10/98	52,00	100,00
23/10/98	88,46	30,77
03/11/98	88,00	60,00
17/11/98	96,00	76,00
01/12/98	92,31	46,15
15/12/98	88,00	76,00
29/12/98	100,00	96,00
12/01/99	91,67	41,67
26/01/99	96,15	15,38
09/02/99	56,00	64,00
23/02/99	26,92	3,85
09/03/99	34,62	0,00
06/04/99	36,00	40,00
04/05/99	24,00	16,00
25/05/99	0,00	12,00

Ovos de *Strongyloides papillosus* foram observados principalmente nos meses de fevereiro, abril e maio de 1999. Os ovos de *Nematodirus sp.* foram observados em todas as análises realizadas. Porém, com maior eliminação entre os meses de novembro de 1998 e fevereiro de 1999 (Figura 4). Da mesma forma que para as ovelhas, os ovos de *Nematodirus sp.* foram incluídos na categoria de ovos de tipo estrongiliforme para as demais análises.



**Figura 4:** Média de ovos de helmintos por grama de fezes em cordeiros, durante o período de julho de 1998 a maio de 1999.

Os ovos de tipo strongiliforme foram observados nas 20 análises realizadas. Ao analisar todos os exames, observou-se que o número de ovos de helmintos por grama de fezes variou de 0 a 27.900 opg (Tabela 11 e Figura 5).

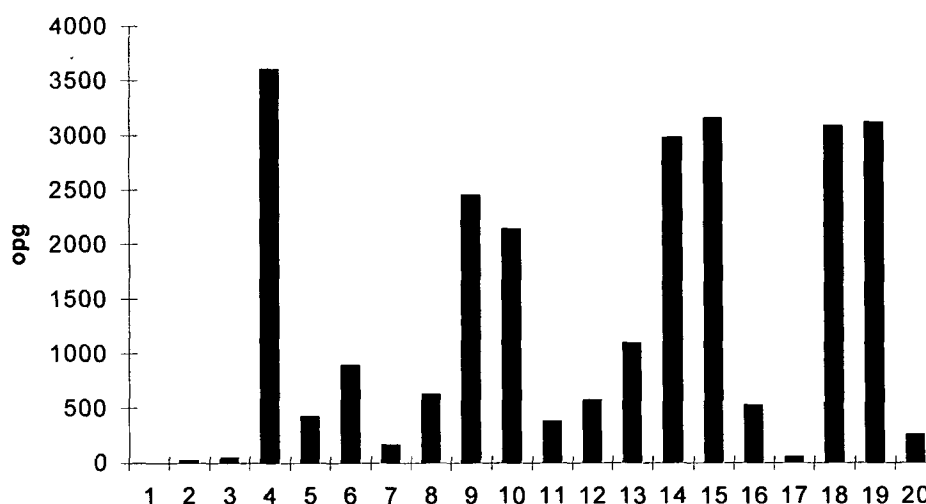
As análises de um a cinco corresponderam à primeira fase do experimento, na qual os exames eram realizados de um "pool" de fezes dos cordeiros, que foi aumentando de acordo com o nascimento dos cordeiros. Na colheita cinco, foi obtido um "pool" correspondente a 20% do rebanho dos cordeiros, pois os 26 cordeiros já tinham nascido

**Tabela 11:** Valores médios, mínimos e máximos de ovos de helmintos por grama de fezes das 20 colheitas de fezes dos 26 cordeiros.

Colheita	Data	Média	Valor mínimo	Valor máximo
1	06/07/98	0,00 <sup>b</sup>	-	-
2	21/07/98	13,64 <sup>b</sup>	-	-
3	05/08/98	40,91 <sup>b</sup>	-	-
4	18/08/98	3600,00 <sup>a</sup>	-	-
5	02/09/98	416,00 <sup>b</sup>	-	-
6	06/10/98	884,78 <sup>b</sup>	0	5200
7	23/10/98	161,53 <sup>b</sup>	0	1350
8	03/11/98	622,72 <sup>b</sup>	0	9300
9	17/11/98	2447,82 <sup>a</sup>	0	13900
10	01/12/98	2130,76 <sup>a</sup>	0	6700
11	15/12/98	372,72 <sup>b</sup>	0	4500
12	29/12/98	565,21 <sup>b</sup>	0	4900
13	12/01/99	1085,71 <sup>b</sup>	100	4700
14	26/01/99	2965,21 <sup>a</sup>	200	9000
15	09/02/99	3145,45 <sup>a</sup>	400	8100
16	23/02/99	518,00 <sup>a</sup>	0	8150
17	09/03/99	46,15 <sup>b</sup>	0	200
18	06/04/99	3073,91 <sup>a</sup>	100	8200
19	04/05/99	3104,34 <sup>a</sup>	100	27900
20	25/05/99	247,82 <sup>b</sup>	0	900

Letras diferentes indicam diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ).

Verificou-se que a primeira eliminação de ovos de helmintos significativa ( $p < 0,05$ ) ocorreu no mês de agosto, quando os animais tinham em média dois meses de idade. Como os cordeiros permaneciam junto com suas mães nos piquetes, este aumento do número opg pode ser atribuído à ingestão de larvas de helmintos na pastagem, provenientes dos ovos de helmintos eliminados pelas ovelhas. Por esta razão, os cordeiros foram desverminados com 200  $\mu$ g de moxidectin por kg de peso vivo. A porcentagem de redução de opg obtida foi de 92,0%.



**Figura 5:** Média de opg em cordeiros, durante o período de julho de 1998 a maio de 1999.

Na colheita seis, por ocasião do desmame, os cordeiros foram desverminados com 200 µg de moxidectin por kg de peso vivo, objetivando-se o acompanhamento dos animais em condições semelhantes de parasitose para o início dos exames hematológicos.

A segunda infecção parasitária foi observada nas colheitas de 17/11/98 e 01/12/98. Neste pico de parasitismo, alguns cordeiros apresentaram sinais clínicos de anemia. Para evitar a perda desses animais, o rebanho dos cordeiros foi novamente desverminado, com dez mg de closantel e cinco mg de oxfendazole por kg de peso vivo. O percentual de redução de opg obtido foi de 71,65%.

Um terceiro pico de eliminação de ovos de helmintos foi observado nas colheitas 14 e 15. Neste pico, alguns animais apresentaram valores de até 9000 opg. Da mesma forma que no pico de parasitismo anterior, foi necessário desverminar novamente o rebanho, com 200 µg de moxidectin por kg de peso vivo. O percentual de redução de opg obtido foi de 94,0%.

Na 18ª colheita, que ocorreu no outono, os cordeiros apresentaram um quarto pico de parasitismo, com média de 3073,91 opg. Optou-se por não desverminar os animais, para que fossem submetidos a um desafio parasitário para o estabelecimento da resposta imunológica contra os parasitos. Entretanto, observou-se na colheita subsequente, 19ª colheita, que a média de ovos de helmintos por grama de fezes alcançou um valor maior, com dois animais altamente parasitados (16900 e 27900 opg). Por esta razão, em 11/05/99, os cordeiros foram desverminados com 10 mg/kg de closantel e 7,5 mg de cloridrato de levamisol por kg de peso vivo, com percentual de redução de opg de 93,24%.

Como os animais foram desmamados somente no mês de outubro de 1998 e as análises hematológicas iniciaram-se neste mesmo período, considerou-se para as demais análises, como o primeiro pico de parasitismo, as colheitas de 17/11/98 e 01/12/98. As colheitas de 26/01/99 e 09/02/99 foram consideradas como o segundo pico de infecção parasitária. A terceira infecção parasitária observada no outono (06/04/99) foi considerada como o terceiro pico de parasitismo dos cordeiros e, a colheita de 04/05/99, como o quarto pico de parasitismo.

#### 4.2.2. Cultura de larvas

Foram realizadas culturas de larvas a partir de "pool" obtido em todas as colheitas de fezes dos cordeiros.

Observou-se que os gêneros *Trichostrongylus* sp. e *Haemonchus* sp. associados representam 82,0% das infecções parasitárias (Tabela 12 e Figura 6).

**Tabela 12:** Porcentagem de larvas de parasitos encontradas nas culturas realizadas em todas as colheitas de fezes dos 26 cordeiros.

Parasitas	Percentual (%)
<i>Trichostrongylus sp.</i>	43
<i>Haemonchus sp.</i>	39
<i>Oesophagostomum sp.</i>	09
<i>Cooperia sp.</i>	04
<i>Nematodirus sp.</i>	03
<i>Ostertagia sp.</i>	02
Total	100

#### 4.2.3. Hematócrito

Foi realizado o hematócrito individual para cada colheita dos 26 cordeiros. Os valores médios do hematócrito variaram de 23,69% a 34,30%. Os valores mínimos e máximos oscilaram entre 13,0% e 27,0%; 31,0% e 43,0%, respectivamente. Na análise dos valores médios do hematócrito do rebanho, observou-se que há uma queda desses valores nas colheitas que correspondem aos quatro picos de parasitismo (colheitas 9 e 10, 14 e 15, 18 e 19) (Tabela 13). Nas colheitas 15, 18 e 19, os valores médios do hematócrito estavam abaixo dos valores de referência para a espécie ovina (anexo Tabela 40).

No primeiro pico de parasitismo, dois cordeiros apresentaram hematócrito de 13% e 14%. Tais valores são muito inferiores ao limite mínimo dos valor considerado normal para os ovinos. Essa diminuição do hematócrito indica uma condição anêmica, reflexo direto do aumento do parasitismo.

A partir da sétima colheita foram observados animais com hematócritos diminuídos.

#### 4.2.4. Concentração de Hemoglobina

Foram determinadas as concentrações de hemoglobina para os 26 cordeiros em todas as colheitas de sangue. As concentrações médias de hemoglobina variaram entre 11,78 g/dl e



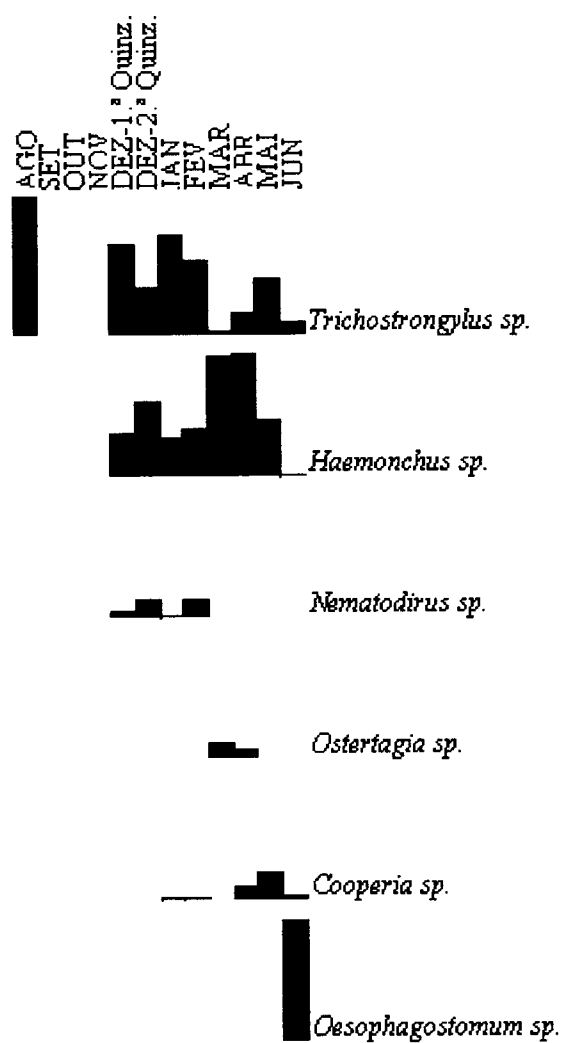
8,18 g/dl. As concentrações mínimas oscilaram entre 3,39 g/dl e 9,66 g/dl, enquanto que os valores máximos ficaram entre 10,36 g/dl e 14,75 g/dl. Há diferença significativa ( $p<0,05$ ) nas colheitas 9, 15, 18 e 19, que correspondem aos picos de parasitismo (Tabela 14).

Verificou-se que no primeiro pico de infecção parasitária (colheitas nove e dez) os valores mínimos da concentração de hemoglobina encontrados foram 3,39 e 3,90 g/dl. No terceiro e quarto picos de parasitismo também houve diminuição dos valores da concentração de hemoglobina. Esses resultados confirmam a anemia, por perda de sangue, causada pelo parasitismo.

**Tabela 13:** Valores médios, mínimos e máximos do hematócrito (%) de todas as colheitas de sangue dos 26 cordeiros.

Colheita	Data	Média (%)	Valor mínimo (%)	Valor máximo (%)
6	06/10/98	33,46 <sup>b</sup>	27	39
7	23/10/98	34,30 <sup>b</sup>	25	43
8	03/11/98	31,88 <sup>b</sup>	22	40
9	17/11/98	28,69 <sup>a</sup>	13	35
10	01/12/98	28,92 <sup>b</sup>	14	36
11	15/12/98	29,96 <sup>b</sup>	26	39
12	29/12/98	29,11 <sup>b</sup>	25	36
13	12/01/99	30,15 <sup>b</sup>	26	34
14	26/01/99	28,07 <sup>a</sup>	21	33
15	09/02/99	26,84 <sup>a</sup>	23	32
16	23/02/99	28,96 <sup>b</sup>	19	33
17	09/03/99	28,34 <sup>a</sup>	24	33
18	06/04/99	25,23 <sup>a</sup>	21	33
19	04/05/99	23,69 <sup>a</sup>	16	31
20	25/05/99	29,15 <sup>b</sup>	27	37

Letras diferentes indicam diferença estatística significativa ( $p<0,05$ ).



**Figura 6:** Gêneros de estrongilídeos encontrados nas culturas de larvas dos cordeiros ao longo do período de agosto de 1998 a junho de 1999.

**Tabela 14:** Valores médios, mínimos e máximos da concentração de hemoglobina, expressos em g/dl, de todas as colheitas de sangue dos 26 cordeiros.

Colheita	Data	Média (g/dl)	Valor mínimo (g/dl)	Valor máximo (g/dl)
6	06/10/98	10,78 <sup>b</sup>	7,64	13,08
7	23/10/98	11,78 <sup>b</sup>	9,66	14,63
8	03/11/98	11,69 <sup>b</sup>	8,42	13,74
9	17/11/98	9,35 <sup>a</sup>	3,39	12,99
10	01/12/98	10,35 <sup>b</sup>	3,90	12,90
11	15/12/98	9,95 <sup>b</sup>	7,87	12,48
12	29/12/98	9,94 <sup>b</sup>	8,14	14,75
13	12/01/99	10,50 <sup>b</sup>	8,00	13,18
14	26/01/99	9,83 <sup>b</sup>	8,40	12,80
15	09/02/99	8,45 <sup>a</sup>	6,40	10,79
16	23/02/99	9,93 <sup>b</sup>	6,30	11,77
17	09/03/99	10,39 <sup>b</sup>	8,14	13,58
18	06/04/99	8,43 <sup>a</sup>	5,83	11,58
19	04/05/99	8,18 <sup>a</sup>	5,29	10,36
20	25/05/99	9,93 <sup>b</sup>	8,85	13,42

Letras diferentes indicam diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ).

#### 4.2.5. Contagem total de eritrócitos

As contagens totais de eritrócitos foram realizadas mensalmente, a partir da sexta colheita de sangue, para os 26 cordeiros, totalizando nove análises. Os valores médios ficaram entre  $7,06 \times 10^6/\mu\text{l}$  e  $11,51 \times 10^6/\mu\text{l}$ . Os valores mínimos e máximos oscilaram entre  $4,34 \times 10^6/\mu\text{l}$  e  $7,28 \times 10^6/\mu\text{l}$ ;  $10,54 \times 10^6/\mu\text{l}$  e  $16,10 \times 10^6/\mu\text{l}$ , respectivamente.

Observou-se diferença significativa ( $p < 0,05$ ) dos valores médios das contagens totais de eritrócitos das colheitas do segundo, terceiro e quarto picos de parasitismo. Em todas as colheitas, os valores mínimos das contagens totais de eritrócitos estavam abaixo dos valores de referência para a espécie ovina (anexo Tabela 31 e Tabela 42).

**Tabela 15:** Valores médios, mínimos e máximos das contagens de totais de eritrócitos ( $\times 10^6/\mu\text{l}$ ), das colheitas mensais de sangue dos 26 cordeiros.

Colheita	Data	Média ( $\times 10^6/\mu\text{l}$ )	Valor mínimo ( $\times 10^6/\mu\text{l}$ )	Valor máximo ( $\times 10^6/\mu\text{l}$ )
6	06/10/98	11,51 <sup>b</sup>	6,80	16,10
8	03/11/98	11,09 <sup>b</sup>	6,00	15,80
10	01/12/98	10,68 <sup>b</sup>	6,00	14,70
13	12/01/99	11,47 <sup>b</sup>	7,28	15,94
15	09/02/99	7,88 <sup>a</sup>	6,00	10,54
17	09/03/99	9,05 <sup>b</sup>	7,00	12,00
18	06/04/99	7,90 <sup>a</sup>	4,70	13,40
19	04/05/99	7,06 <sup>a</sup>	4,34	11,66
20	25/05/99	8,23 <sup>b</sup>	7,00	12,00

Letras diferentes indicam diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ).

#### 4.2.6. Contagem total de leucócitos

As contagens totais de leucócitos dos 26 cordeiros foram realizadas com intervalos de um mês, a partir da colheita seis. Os valores médios oscilaram entre 5384,00/ $\mu\text{l}$  e 8411,53/ $\mu\text{l}$ . Os valores mínimos variaram entre 2400,00/ $\mu\text{l}$  e 5000,00/ $\mu\text{l}$ , enquanto que os valores máximos ficaram entre 8300,00/ $\mu\text{l}$  e 16600,00/ $\mu\text{l}$ . Há diferença significativa ( $p < 0,05$ ) nas colheitas 13, 15, 18 e 19 (Tabela 16). Entretanto, as médias das contagens de leucócitos dessas colheitas estavam dentro dos valores considerados normais para a espécie ovina (anexo Tabela 31 e Tabela 43).

Com exceção do valor mínimo da contagem total de leucócitos da colheita 13, em todas as outras colheitas, os valores mínimos encontrados foram inferiores ao limite mínimo do valor de referência para os ovinos (anexo Tabela 31).

**Tabela 16:** Valores médios, mínimos e máximos das contagens totais de leucócitos (/ $\mu$ l) das colheitas mensais de sangue dos 26 cordeiros.

Colheita	Data	Média (/ $\mu$ l)	Valor mínimo (/ $\mu$ l)	Valor máximo (/ $\mu$ l)
6	06/10/98	8411,53 <sup>b</sup>	4200,00	16600,00
8	03/11/98	8080,76 <sup>b</sup>	4500,00	13600,00
10	01/12/98	8326,92 <sup>b</sup>	5000,00	12800,00
13	12/01/99	6400,00 <sup>a</sup>	3500,00	10100,00
15	09/02/99	6219,00 <sup>a</sup>	3200,00	9500,00
17	09/03/99	7865,38 <sup>b</sup>	3900,00	13400,00
18	06/04/99	5542,30 <sup>a</sup>	3900,00	8000,00
19	04/05/99	5750,00 <sup>a</sup>	3500,00	8500,00
20	25/05/99	5384,00 <sup>a</sup>	2400,00	8300,00

Letras diferentes indicam diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ).

#### 4.2.7. Proteínas plasmáticas totais

As concentrações de proteínas plasmáticas totais foram determinadas individualmente para os 26 cordeiros em todas as colheitas de sangue. Os valores médios variaram entre 5,21 g/dl e 6,05 g/dl. Os valores mínimos ficaram entre 2,60 g/dl e 5,40 g/dl, enquanto que os valores máximos oscilaram entre 5,60 g/dl e 7,20 g/dl (Tabela 17).

O valor de referência de proteínas plasmáticas totais para os ovinos varia de 6,0 a 7,5 g/dl (JAIN, 1993). Os valores médios encontrados, com exceção da colheita 16, foram inferiores ao limite mínimo dessa variação, sugerindo a ação dos parasitos.

**Tabela 17:** Valores médios, mínimos e máximos das concentrações de proteínas plasmáticas de todas as colheitas de sangue dos 26 cordeiros.

Colheita	Data	Média (g/dl)	Valor mínimo (g/dl)	Valor máximo (g/dl)
6	06/10/98	5,43 <sup>b</sup>	5,00	5,60
7	23/10/98	5,33 <sup>b</sup>	4,80	6,00
8	03/11/98	5,66 <sup>b</sup>	4,60	6,80
9	17/11/98	5,23 <sup>a</sup>	3,00	6,40
10	01/12/98	5,26 <sup>a</sup>	2,60	6,20
11	15/12/98	5,36 <sup>b</sup>	4,20	6,00
12	29/12/98	5,47 <sup>b</sup>	5,00	6,00
13	12/01/99	5,80 <sup>b</sup>	5,00	6,40
14	26/01/99	5,60 <sup>b</sup>	4,80	6,60
15	09/02/99	5,55 <sup>b</sup>	5,00	6,40
16	23/02/99	6,05 <sup>b</sup>	5,00	7,00
17	09/03/99	5,99 <sup>b</sup>	5,40	6,60
18	06/04/99	5,21 <sup>a</sup>	4,90	6,10
19	04/05/99	5,21 <sup>a</sup>	3,60	6,60
20	25/05/99	5,86 <sup>b</sup>	5,00	7,20

Letras diferentes indicam diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ).

#### 4.2.8. Contagem de eosinófilos

Na análise dos resultados médios das contagens de eosinófilos, verificou-se que há grande variação nesses valores em todas as colheitas. Os valores médios variaram entre 52,52/mm<sup>3</sup> e 215,74/mm<sup>3</sup>. Os valores mínimos e máximos oscilaram entre 6,25/mm<sup>3</sup> e 56,25/mm<sup>3</sup>; 106,00/mm<sup>3</sup> e 1168,75/mm<sup>3</sup>, respectivamente (Tabela 18).

Observou-se diferença significativa entre as colheitas 12 e 13, 17 e 18, 19 e 20. A média da contagem de eosinófilos aumentou progressivamente até 12/01/99 (colheita 13), quando

apresentou uma queda significativa. Esta diminuição da média da contagem de eosinófilos ocorreu quatorze dias antes do segundo pico de parasitismo. A partir da colheita 15, a média da contagem de eosinófilos apresentou novo aumento progressivo. Entre as colheitas 17 e 18, observou-se diferença significativa ( $p < 0,05$ ), com a diminuição do valor médio da contagem de eosinófilos na colheita 18, considerada como o terceiro pico de parasitismo. Desta vez, os animais não foram desverminados. Verificou-se um novo aumento da média da contagem de eosinófilos na colheita 19, que correspondeu ao quarto pico de infecção parasitária. Esta observação demonstra o (provável) início da resposta imune dos cordeiros. Os dados do presente trabalho indicam que até os onze meses de idade, os cordeiros ainda não possuem uma resposta imunológica estabilizada.

**Tabela 18:** Valores médios, mínimos e máximos das contagens de eosinófilos de todas as colheitas de sangue do rebanho dos cordeiros.

Colheita	Data	Média (/mm <sup>3</sup> )	Valor mínimo (/mm <sup>3</sup> )	Valor máximo (/mm <sup>3</sup> )
6	06/10/98	52,52 <sup>b</sup>	12,50	140,62
7	23/10/98	84,25 <sup>b</sup>	21,87	221,87
8	03/11/98	74,99 <sup>b</sup>	9,38	190,62
9	17/11/98	68,74 <sup>b</sup>	6,25	362,5
10	01/12/98	58,53 <sup>b</sup>	12,50	106,25
11	15/12/98	59,49 <sup>b</sup>	12,50	321,88
12	29/12/98	112,86 <sup>b</sup>	15,63	387,50
13	12/01/99	174,87 <sup>a</sup>	12,50	1168,75
14	26/01/99	93,14 <sup>b</sup>	6,25	384,37
15	09/02/99	122,95 <sup>b</sup>	12,50	734,37
16	23/02/99	166,82 <sup>b</sup>	37,50	378,12
17	09/03/99	185,09 <sup>a</sup>	56,25	606,25
18	06/04/99	101,43 <sup>b</sup>	18,75	278,12
19	04/05/99	215,74 <sup>a</sup>	37,50	915,62
20	25/05/99	194,49 <sup>a</sup>	34,37	1100,00

Letras diferentes indicam diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ).

#### **4.3. Seleção dos animais**

A seleção de animais resistentes ao parasitismo é uma das alternativas que se mostra promissora na luta entre parasito e hospedeiro. Para uma seleção, torna-se indispensável a utilização de vários caracteres para evitar a seleção de animais resistentes ao parasitismo mas que tenham baixo desempenho zootécnico. Assim, os caracteres usados para esta seleção foram: quantidade de ovos de helmintos por grama de fezes (opg), contagem de eosinófilos, hematócrito (Ht), concentração de hemoglobina (Hb), contagem total de eritrócitos (RBC), contagem total de leucócitos (WBC) e proteínas plasmáticas totais (PPT).

Foram realizados: 15 análises de fezes de 22 ovelhas, totalizando 330 exames coproparasitológicos. Nove análises de sangue, compreendendo: contagem de eosinófilos, totalizando 198 exames; hematócrito, com 198 exames; concentração de hemoglobina com 198 exames; contagem total de eritrócitos com 198 exames, contagem total de leucócitos com 198 exames e proteínas plasmáticas totais com 198 exames.

De todas as análises realizadas para as ovelhas, foram obtidos 1518 dados. Após a obtenção dos dados, uma tabela foi formada com todos os resultados para permitir o tratamento estatístico. Trata-se de uma matriz de dados onde as unidades são representadas pelos animais (22 ovelhas) e os caracteres são: opg, contagem de eosinófilos, hematócrito, concentração de hemoglobina, contagem total de eritrócitos, contagem total de leucócitos e proteínas plasmáticas totais.

Para os cordeiros foram realizados: 20 análises de fezes de 26 cordeiros, totalizando 520 exames coproparasitológicos. Para os parâmetros sanguíneos (contagem de eosinófilos, hematócrito, concentração de hemoglobina e proteínas plasmáticas totais), foram realizadas 15 análises, totalizando 390 exames de cada um destes parâmetros. E nove análises de sangue



compreendendo a contagem total de eritrócitos e a contagem total de leucócitos, totalizando 234 exames de cada um destes parâmetros. De todas as análises realizadas, foram obtidos 2314 dados. Da mesma forma que para as ovelhas, foi formada uma tabela com todos os resultados para o tratamento estatístico dos dados. Com uma matriz de dados onde as unidades são representadas pelos animais (26 cordeiros) e os caracteres são os mesmos supracitados para as ovelhas.

As unidades e os caracteres foram submetidos a análise de agrupamento baseado na similaridade ou distância de caracteres. Dentre as análises multivariadas, a análise de cluster mostra-se uma metodologia de escolha, uma vez que permite trabalhar com muitos índices de seleção ao mesmo tempo.

Esta análise foi primeiramente realizada para as ovelhas e posteriormente para os cordeiros.

#### **4.3.1. Ovelhas**

Para a classificação dos animais em resistentes e susceptíveis ao parasitismo, utilizou-se a totalidade dos dados obtidos. A classificação hierárquica foi realizada a partir dos dados brutos, utilizando-se a distância euclidiana e a construção de dendogramas usando linhas completas.

Para a classificação dos animais foram construídas três hipóteses. Na primeira, todos os dados obtidos foram incluídos para a construção do dendograma. Para a segunda hipótese, foram utilizados dados obtidos em três meses consecutivos (30/03, 27/04 e 25/05). Na terceira, foram utilizados dados obtidos em apenas uma colheita e para isso, foi escolhido o pico de infecção do outono.

### Hipótese 1:

Nesta hipótese os 1518 caracteres foram utilizados. O dendograma construído forma dois grupos. O processo de dicotomia se manifesta a um nível de 14000 para a formação dos dois grupos (A e B).

Os agrupamentos obtidos separaram o rebanho em dois grupos (A e B) (Figura 7). O grupo A representa 18,18% do rebanho (quatro animais) e o grupo B representa 81,81% do rebanho, com 18 animais.

Observa-se diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os valores de ovos de helmintos por grama de fezes (opg) dos animais do grupo A e do grupo B (Tabela 19). Porém, não foi observada diferença significativa entre os valores médios dos parâmetros sanguíneos (contagem de eosinófilos, hematócrito, concentração de hemoglobina, contagem total de eritrócitos, proteínas plasmáticas totais e contagem total de leucócitos) entre os animais dos grupos A e B (Tabela 19).

**Tabela 19:** Valores médios de opg, contagem de eosinófilos, hematócrito (Ht), concentração de hemoglobina (Hb), contagem total de eritrócitos (RBC), proteínas plasmáticas totais (PPT) e contagem total de leucócitos (WBC) dos grupos das ovelhas em todas as colheitas de fezes e de sangue.

Grupos	Opg	Contagem de eosinófilos/mm <sup>3</sup>	Ht (%)	Hb (g/dl)	RBC x10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup>	PPT (g/dl)	WBC (/μl)
A	1308,33 <sup>a</sup>	356,15	31,33	11,11	9,81	6,11	5511,11
B	90,12 <sup>b</sup>	582,65	31,70	11,41	9,67	6,18	6094,44

Letras diferentes indicam diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ )

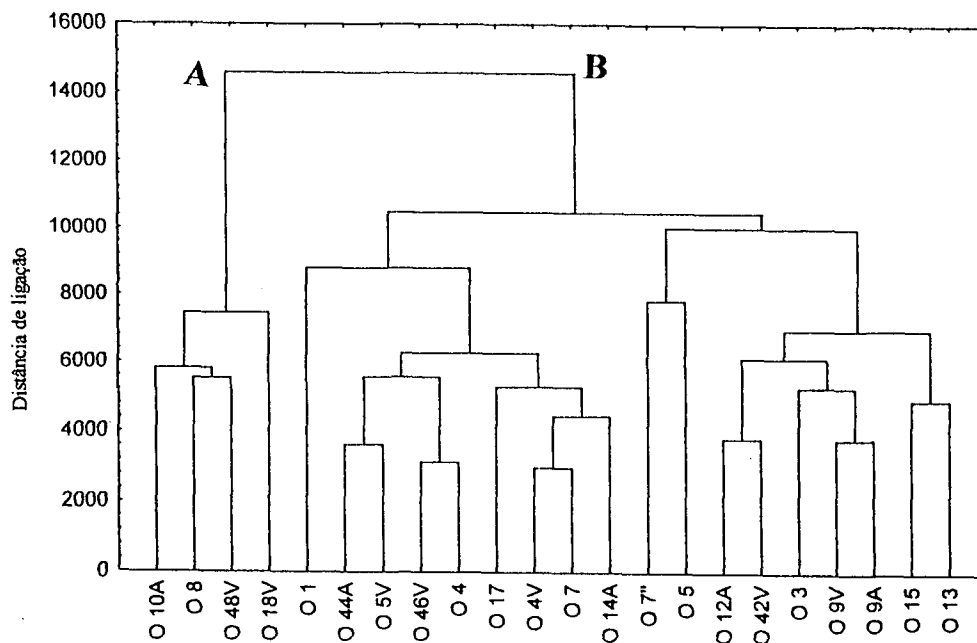
**Hipótese 2:**

Para a hipótese 2 foram utilizados os valores de opg e dos parâmetros sanguíneos (da contagem de eosinófilos, do hematócrito, da concentração de hemoglobina, da contagem total de eritrócitos, da contagem total de leucócitos e das proteínas plasmáticas totais) das colheitas realizadas em 30/03/99, 27/04/99 e 25/05/99. As três últimas colheitas foram avaliadas para evitar distorções, uma vez que um único pico de infecção nem todos os animais poderiam ter sido infectados.

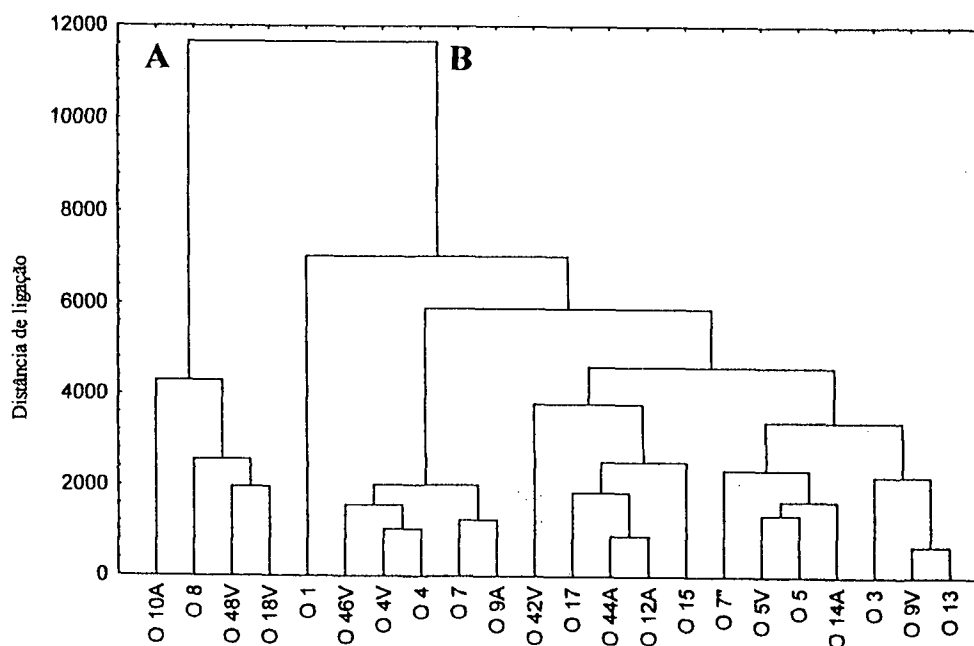
Assim, foram considerados o parâmetro parasitológico (opg) e sanguíneos (contagem de eosinófilos, hematócrito, concentração de hemoglobina, contagem total de eritrócitos, contagem total de leucócitos e proteínas plasmáticas totais) de três meses, quando todos os animais já poderiam ter estabelecido uma resposta à infecção parasitária, pois todas as ovelhas permaneciam no mesmo local e sob as mesmas condições.

Os agrupamentos obtidos separaram o rebanho em dois grupos (A e B) (Figura 8). O grupo A representa 18,18% do rebanho (quatro animais) e o grupo B representa 81,81% do rebanho, com 18 animais.

Observa-se diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ) entre os valores de ovos de helmintos por grama de fezes (opg) dos animais do grupo A e do grupo B (Tabela 20). Porém, não foi observada diferença estatística significativa entre os valores médios dos parâmetros sanguíneos (contagem de eosinófilos, hematócrito, concentração de hemoglobina, contagem total de eritrócitos, proteínas plasmáticas totais e contagem total de leucócitos) entre os animais dos grupos A e B (Tabela 20).



**Figura 7:** Dendrograma construído segundo método hierárquico ascendente, utilizando a distância euclidiana a linhas completas. Foram utilizados todos os dados de todas as colheitas de fezes e de sangue das ovelhas.



**Figura 8:** Dendrograma construído segundo método hierárquico ascendente, utilizando a distância euclidiana a linhas completas. Foram utilizados os dados referentes as três últimas colheitas (30/03/99, 27/04/99 e 25/05/99) de fezes e de sangue das ovelhas.

**Tabela 20:** Valores médios de opg, contagem de eosinófilos, hematócrito (Ht), concentração de hemoglobina (Hb), contagem total de eritrócitos (RBC), proteínas plasmáticas totais (PPT) e contagem total de leucócitos (WBC) dos grupos das ovelhas nas três últimas colheitas de fezes e de sangue (30/03/99, 27/04/99 e 25/05/99).

Grupos	Opg	Contagem de eosinófilos/mm <sup>3</sup>	Ht (%)	Hb (g/dl)	RBC x10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup>	PPT (g/dl)	WBC (/μl)
A	3266,66 <sup>a</sup>	304,41	30,58	10,50	7,87	5,80	4724,50
B	144,44 <sup>b</sup>	432,22	32,01	11,09	8,76	6,02	5416,33

Letras diferentes indicam diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ )

Vários dendogramas são possíveis de serem construídos se utilizarmos todos os dados ou se utilizarmos somente os dados de opg com um parâmetro sanguíneo (contagem de eosinófilos, série vermelha, contagem total de leucócitos e proteínas plasmáticas totais) individualmente das três últimas colheitas de fezes e de sangue. Entretanto, o dendograma construído com o opg e a contagem de leucócitos apresentou um agrupamento diferente (anexo Figura 18). Assim, um novo dendograma foi construído associando o opg com a contagem de eosinófilos, a série vermelha e as proteínas plasmáticas totais. Todas as construções obtidas são idênticas.

Neste novo dendograma (Figura 9), o rebanho foi separado em dois grupos A e B, com duas subdivisões no grupo B (B<sub>1</sub> e B<sub>2</sub>). No grupo A são classificados quatro animais, o que representa 18,18% do rebanho. O grupo B é formado por 18 ovelhas. Este grupo possui duas subdivisões, formada por um pequeno grupo de três animais (subgrupo B<sub>2</sub>), representando 13,64% do rebanho e por outro grupo com 15 animais (subgrupo B<sub>1</sub>) que representam 68,17% do rebanho das ovelhas.

As duas subdivisões (B<sub>1</sub> e B<sub>2</sub>) apresentam um baixo nível de ligação, no entanto, há diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre a média de opg dos animais do grupo A, do subgrupo B<sub>1</sub> do subgrupo B<sub>2</sub> (Tabela 21). Nos demais parâmetros avaliados não foram observadas diferenças significativas.

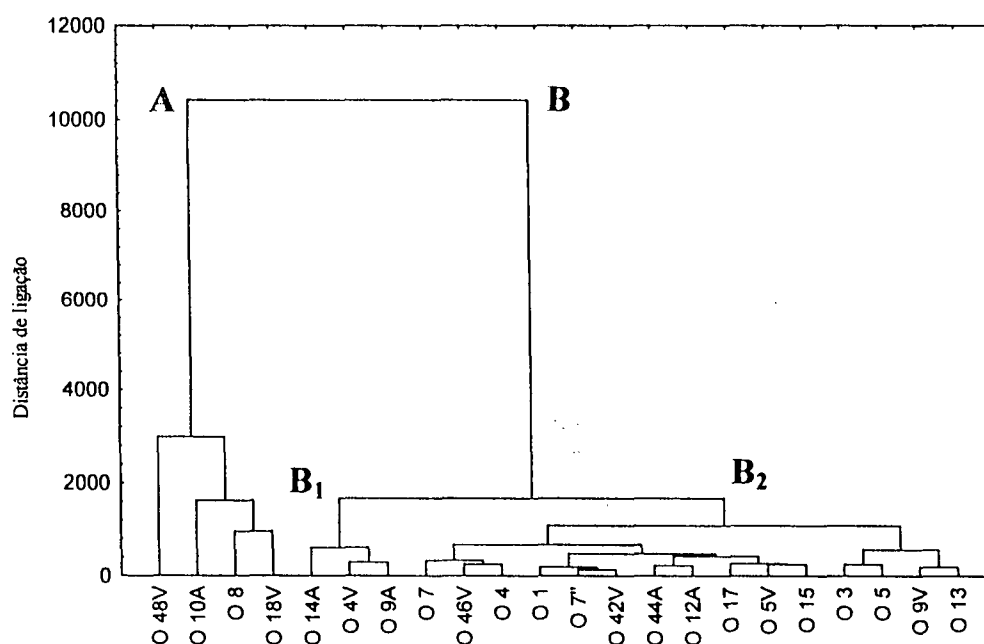
**Tabela 21:** Valores médios de opg, contagem de eosinófilos, hematócrito, concentração de hemoglobina, contagem total de eritrócitos e proteínas plasmáticas totais dos grupos das ovelhas consideradas susceptíveis, intermediárias e resistentes nas três últimas colheitas (30/03, 27/04 e 25/05) de fezes e de sangue.

Grupos	Opg	Contagem de eosinófilos/mm <sup>3</sup>	Ht (%)	Hb (g/dl)	RBC x10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup>	PPT (g/dl)
A	3266,66 <sup>a</sup>	304,41	30,58	10,50	7,87	5,8
B <sub>1</sub>	444,44 <sup>b</sup>	373,26	31,99	11,43	8,58	5,9
B <sub>2</sub>	84,44 <sup>c</sup>	444,02	32,02	11,02	8,79	6,0

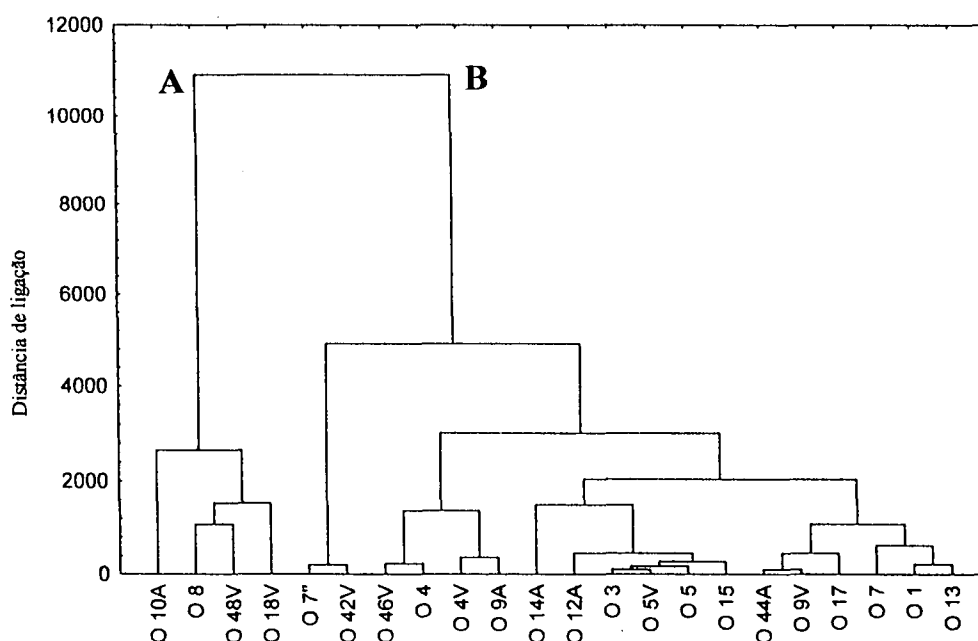
Letras diferentes indicam diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ).

### Hipótese 3 :

Nesta hipótese, para a classificação dos animais em susceptíveis e resistentes ao parasitismo foram construídos dendogramas , utilizando os valores de opg e dos parâmetros sanguíneos da contagem de eosinófilos, do hematócrito, da concentração de hemoglobina, da contagem total de eritrócitos, das proteínas plasmáticas totais e da contagem total de leucócitos. Os dados referem-se a uma única colheita de fezes e de sangue que corresponde ao pico de infecção parasitária do outono (30/03/99).



**Figura 9:** Dendrograma construído segundo método hierárquico ascendente, utilizando a distância euclidiana a linhas completas. Foram utilizados os dados de opg, da contagem de eosinófilos e da série vermelha do sangue das três últimas colheitas (30/03/99, 27/04/99 e 25/05/99) das ovelhas.



**Figura 10:** Dendrograma construído segundo método hierárquico ascendente, utilizando a distância euclidiana a linhas completas. Foram utilizados todos os dados referentes ao pico de parasitismo (30/03/99) das ovelhas.

Vários dendogramas são possíveis de serem construídos se utilizarmos todos os dados ou se utilizarmos os dados de opg contra um dos parâmetros sanguíneos. Quando se constrói o dendrograma com todos os parâmetros avaliados, o rebanho é separado em dois grupos (A e B). O grupo A é formado por quatro animais, representando 18,18% do rebanho e o grupo B com 18 ovelhas, representando 81,81% do rebanho (Figura 10).

Quando comparados os valores médios de opg, contagem de eosinófilos, concentração de hemoglobina, proteínas plasmáticas totais e contagem total de leucócitos, observa-se diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os animais do grupo A e B (Tabela 22).

O comportamento esperado dos eosinófilos durante a infecção parasitária é aquele em que há uma correlação inversa entre os eosinófilos e o opg (BUDDLE *et al.*, 1992), quando há

um aumento no número de eosinófilos, há uma queda do opg. Observa-se que os valores médios da contagem total de leucócitos apresentam uma correlação negativa semelhante ao comportamento dos eosinófilos em relação ao opg. Este fato sugere que há uma relação entre os leucócitos totais e os eosinófilos, uma vez que o eosinófilo é um leucócito granulócito.

No grupo A, o valor médio da concentração das proteínas plasmáticas totais está dentro do considerado normal para a espécie ovina (anexo Tabela 31). No entanto, o valor médio das ovelhas do grupo B está abaixo do limite mínimo de referência para os ovinos (Tabela 22 e anexo Tabela 31).

Esta diferença significativa dos valores de proteínas plasmáticas totais entre os grupos A e B, sugere uma correlação negativa entre estes valores e a contagem de opg, utilizada para a classificação dos animais. Portanto, as ovelhas com maior opg, possuem menores valores de proteínas plasmáticas totais.

**Tabela 22:** Valores médios de opg, contagem de eosinófilos, hematócrito (Ht), concentração de hemoglobina (Hb), contagem total de eritrócitos (RBC), proteínas plasmáticas totais (PPT) e contagem total de leucócitos (WBC) dos grupos A e B das ovelhas no pico de infecção (30/03/99).

Grupos	opg	Contagem de eosinófilos/mm <sup>3</sup>	Ht (%)	Hb (g/dl)	RBC x10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup>	PPT (g/dl)	WBC (/μl)
A	9125,00 <sup>a</sup>	192,18 <sup>a</sup>	26,50	9,03 <sup>a</sup>	8,62	5,20 <sup>a</sup>	4000,00 <sup>a</sup>
B	344,44 <sup>b</sup>	460,24 <sup>b</sup>	31,39	11,39 <sup>b</sup>	9,99	6,06 <sup>b</sup>	5744,44 <sup>b</sup>

Letras diferentes indicam diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ) entre os grupos.

Dentro desta mesma hipótese, dezenas de outros dendogramas podem ser construídos se utilizarmos apenas um parâmetro sanguíneo com o opg, isto é, opg e contagem de eosinófilos, opg e hematócrito, opg e concentração de hemoglobina, opg e contagem total de eritrócitos, opg e contagem total de leucócitos e opg e proteínas plasmáticas totais. Todas as construções são idênticas entre si, com exceção da construção opg e contagem total de



leucócitos (anexo Figura 19). Desta forma, realizou-se uma nova construção, correlacionando os ovos de helmintos por grama de fezes com a contagem de eosinófilos, com o hematócrito, com a concentração de hemoglobina, com a contagem total de eritrócitos e com as proteínas plasmáticas totais, retirando-se a contagem total de leucócitos.

Nesta construção (Figura 11), o rebanho ficou separado em dois grupos (A e B), com duas subdivisões B<sub>1</sub> e B<sub>2</sub>, apesar da distância euclidiana de ligação entre os dois subgrupos ser pequena (2000). No grupo A são classificadas quatro ovelhas, o que representa 18,18% do rebanho. O grupo B: é formado por 18 ovelhas (81,81% do rebanho). Porém, formado por um pequeno grupo de três animais (subgrupo B<sub>1</sub>), representando 13,64% do rebanho, e por outro com 15 animais (subgrupo B<sub>2</sub>) que representam 68,17%.

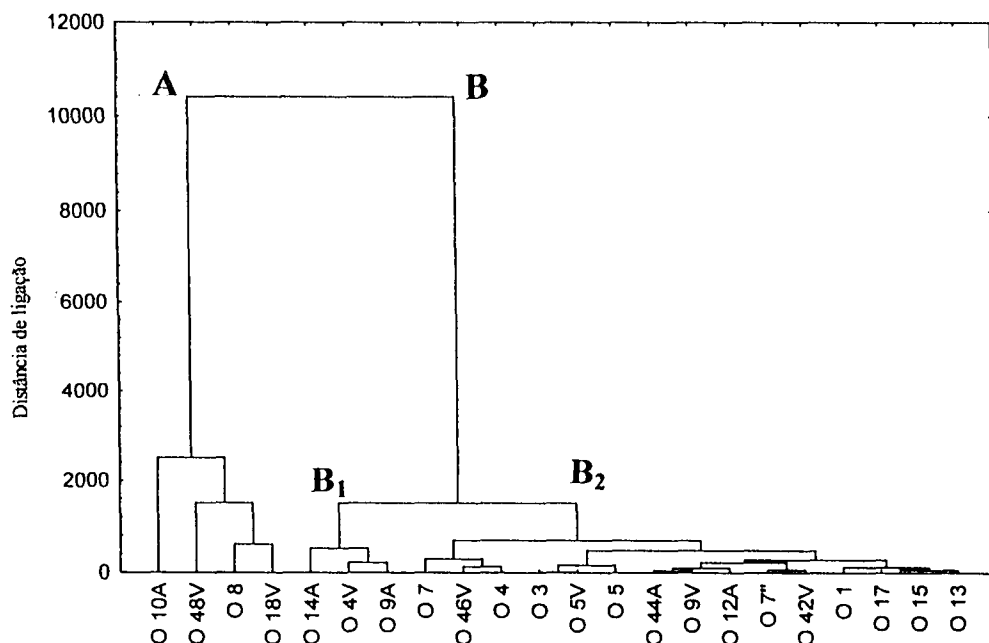
A presença do subgrupo B<sub>1</sub>, mostra uma diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ) para os valores de opg, contagem de eosinófilos e concentração de hemoglobina (Tabela 23).

No grupo A, constata-se o menor valor médio do hematócrito e da contagem total de eritrócitos em relação aos grupos B<sub>1</sub> e B<sub>2</sub>. Este valor está abaixo do limite mínimo dos valores de referência do hematócrito para a espécie ovina, indicando uma condição de anemia, causada pelo parasitismo, de acordo com JAIN (1993) (anexo Tabela 31).

Observa-se que nos subgrupos B<sub>1</sub> e B<sub>2</sub> das ovelhas, as médias da concentração de hemoglobina estão dentro do valor considerado normal para a espécie ovina (de 9,0 a 15,0 g/dl), mas abaixo da média de 11,5 g/dl. No entanto, há uma diferença estatística significativa entre o grupo A e o subgrupo B<sub>2</sub>, sugerindo uma correlação negativa entre estes valores e a contagem de opg.

Portanto, as ovelhas com maior opg, possuem os menores valores da concentração de hemoglobina. O valor médio das proteínas plasmáticas do grupo A está abaixo do limite mínimo dos valores de referência das proteínas plasmáticas para a espécie ovina, indicando a

hipoproteïnemia, que também é consequência das infecções parasitárias (JAIN, 1993) (anexo Tabela 31). Todos estes valores apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os animais do grupo A e do subgrupo B<sub>2</sub> (Tabela 23).



**Figura 11:** Dendrograma construído segundo método hierárquico ascendente, utilizando distância euclidiana a linhas completas. Foram utilizados os dados de opg, da contagem de eosinófilos e da série vermelha do sangue, do pico de parasitismo (30/03/99) das ovelhas.

São observadas diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os valores das contagens de eosinófilos do grupo A e dos subgrupos B<sub>1</sub> e B<sub>2</sub> (Tabela 23). As ovelhas do grupo A apresentaram o menor valor médio da contagem de eosinófilos em relação aos subgrupos B<sub>1</sub> e B<sub>2</sub> no pico de infecção. Estes resultados mostram que a média de eosinófilos das ovelhas do subgrupo B<sub>2</sub> (com baixo opg) é superior aos das ovelhas do grupo A (com alto opg).

**Tabela 23:** Valores médios de opg, contagem de eosinófilos, hematócrito (Ht), concentração de hemoglobina (Hb), contagem total de eritrócitos (RBC) e proteínas plasmáticas totais (PPT) dos grupos das ovelhas no pico de infecção (30/03/99).

Grupos	Opg	Contagem de eosinófilos/mm <sup>3</sup>	Ht (%)	Hb (g/dl)	RBC X10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup>	PPT (g/dl)
A	9125,00 <sup>a</sup>	192,18 <sup>a</sup>	26,50	9,03 <sup>a</sup>	8,62	5,20 <sup>a</sup>
B <sub>1</sub>	1233,33 <sup>b</sup>	415,62 <sup>b</sup>	32,33	11,27 <sup>b</sup>	9,33	5,93 <sup>b</sup>
B <sub>2</sub>	166,66 <sup>c</sup>	469,16 <sup>c</sup>	31,20	11,41 <sup>c</sup>	10,13	6,08 <sup>c</sup>

Letras diferentes indicam diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ) entre os grupos.

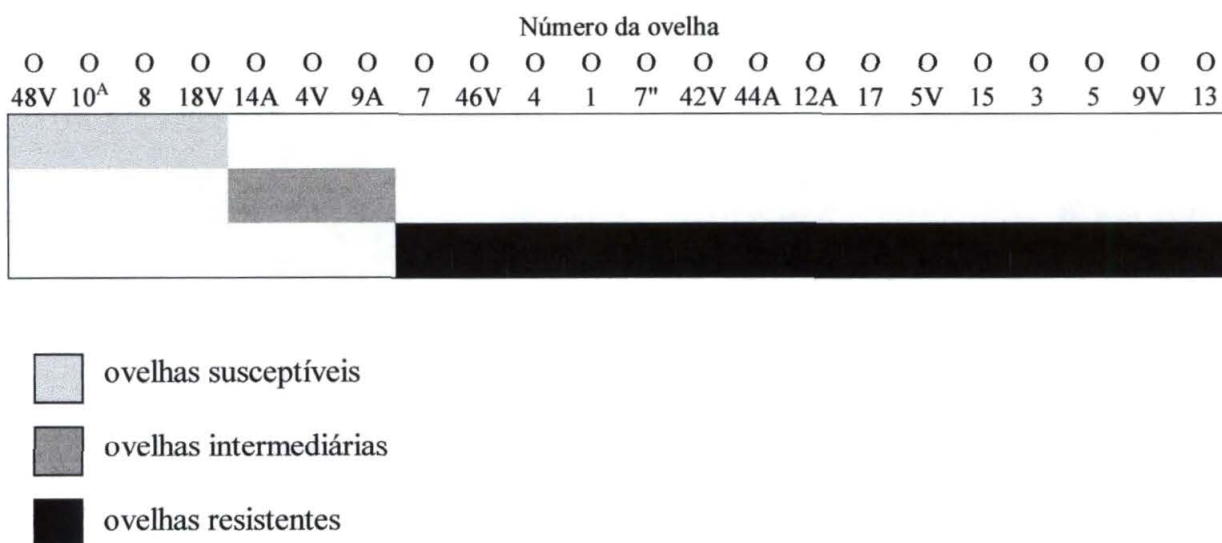
Na análise das três hipóteses propostas, os dendogramas que correlacionam o opg com a contagem de eosinófilos, com a série vermelha (hematócrito, concentração de hemoglobina e eritrócitos totais) e com as proteínas plasmáticas totais e que separam os animais em grupos A e B e subgrupos B<sub>1</sub> e B<sub>2</sub>, foram os que apresentaram o melhor nível de agrupamento (Figuras 9 e 11). A partir dos valores médios de opg encontrados no pico de infecção parasitária (hipótes 3) e nas três últimas colheitas de fezes e de sangue (hipótese 2) (Tabelas 2 e 4), foi estabelecido o nível de corte de 500 opg, para a classificação dos grupos de acordo com as análises de cluster realizadas. Assim, os animais do grupo A podem ser classificados como animais susceptíveis ao parasitismo. As ovelhas dos subgrupos B<sub>1</sub> e B<sub>2</sub> são classificadas como intermediárias e resistentes à verminose gastrointestinal, respectivamente.

Tanto numa hipótese quanto na outra, os animais do grupo A, do grupo B, e dos subgrupos B<sub>1</sub> e B<sub>2</sub>, são sempre os mesmos (Tabela 24).

De acordo com as classificações propostas, encontramos duas hipóteses para a seleção das ovelhas: 18,18% dos animais do rebanho foram considerados susceptíveis à verminose gastrointestinal. Três animais (13,64%) foram considerados intermediários e 68,17% (15 animais) do rebanho foi considerado resistente à parasitose gastrointestinal (Figura 12 e Tabela 24) utilizando-se os dados do opg com os parâmetros sanguíneos, com exceção da contagem

total de leucócitos do pico de infecção e das três últimas colheitas de fezes e de sangue. Entretanto, no caso das três últimas colheitas, os animais do grupo intermediário podem ser considerados como animais resistentes porque apresentam boa resposta imunológica, com a média de opg abaixo do nível de corte de opg estabelecido (500 opg) (Figura 9).

Os parâmetros avaliados mostraram-se bons marcadores da resposta ao parasitismo no pico de infecção e nas colheitas de 30/03/99, 27/04/99 e 25/05/99. No presente estudo, a melhor época para a seleção mostrou-se ser o pico de parasitismo do outono, pois as análises realizadas com dados das três colheitas apresentaram os mesmos resultados (Figuras 9 e 11 e Tabela 24).



**Figura 12:** classificação das ovelhas em grupos resistente, intermediário e susceptível ao parasitismo gastrointestinal, segundo o pico de parasitismo de outono (30/03/99).

**Tabela 24:** Separação das ovelhas em grupos susceptível, intermediário e resistente de acordo com o opg e a contagem de eosinófilos, opg e hematócrito, opg e concentração de hemoglobina, opg e contagem total de eritrócitos e opg e proteínas plasmáticas totais do pico de infecção parasitária (30/03/99) e das 3 últimas colheitas de fezes e de sangue (30/03/99, 27/04/99, 25/05/99).

Número da ovelha	Susceptível	Intermediário	Resistente
O 48V	S		
O 10 <sup>A</sup>	S		
O 8	S		
O 18V	S		
O 14 <sup>A</sup>		I	
O 4V		I	
O 9 <sup>A</sup>		I	
O 7			R
O 46V			R
O 4			R
O 1			R
O 7"			R
O 42V			R
O 44 <sup>A</sup>			R
O 12 <sup>A</sup>			R
O 17			R
O 5V			R
O 15			R
O 3			R
O 5			R
O 9V			R
O 13			R
Total	04	03	15
Total (%)	18,18	13,64	68,17

#### **4.3.2. Cordeiros**

Para a classificação dos animais em resistentes e susceptíveis ao parasitismo, utilizou-se a mesma metodologia empregada para as ovelhas. Assim, foi possível trabalhar com vários índices pelo processo de agrupamento. Da mesma forma que para as ovelhas, na análise de cluster as unidades foram representadas pelos cordeiros e os caracteres representados pelo opg, contagem de eosinófilos, hematócrito, concentração de hemoglobina, contagem total de eritrócitos e proteínas plasmáticas totais.

O dendograma construído utilizando-se o total de caracteres não formou reagrupamentos quer sejam utilizados: linhas completas, linhas médias ou linhas simples (anexo Figura 20).

Os dados da associação do opg e contagem total de leucócitos foram submetidos a análise de agrupamento. No entanto, quando se utiliza opg com a contagem total de leucócitos, não se formam grupos distintos. Cada animal se reagrupa a uma distância euclidiana bem elevada. Assim, para a construção dos dendogramas de cada hipótese, a associação do opg com a contagem total de leucócitos não foi utilizada.

Foram então propostas quatro hipóteses, utilizando variáveis visando diminuir o número de análises necessárias para a seleção dos animais.

##### **Hipótese 1:**

O dendograma foi construído com o método ascendente hierárquico a linhas completas. Os dados de exame de fezes (opg) e dos parâmetros sanguíneos (contagem de eosinófilos, Ht, Hb, RBC e PPT) referem-se a média de duas colheitas que correspondem ao primeiro pico de infecção parasitária (17/11/98 e 01/12/98), quando a média de idade dos cordeiros era de cinco meses. Os animais de número 28 e 34 formaram um grupo separado nesta análise porque apresentaram

valores discrepantes de opg (9350 e 9400, respectivamente). Todavia, eles encontram-se no grupo de animais altamente susceptíveis.

O rebanho dos cordeiros foi separado em três grupos A, B e C. O processo de dicotomia de grupo A para o grupo B deu-se a um nível bem elevado, de 7500. A segunda dicotomia ocorre logo em seguida a um nível de 6000. O grupo A é formado por 16 animais, representando 66,68% do rebanho. O grupo B é formado por quatro animais, o que representa 16,66% do rebanho dos cordeiros, e o grupo C é também formado por quatro animais (16,66% do rebanho) (Figura 13).

Quando se compara os valores médios de opg, observa-se diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ) entre o grupo A e os grupos B e C (Tabela 25). Em todos os parâmetros sanguíneos da série vermelha (Ht, Hb e RBC) foi observada diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre o grupo A, grupo B e grupo C. As concentrações de proteínas plasmáticas totais também apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

Os valores médios do hematócrito, das concentrações de hemoglobina, da contagem total de eritrócitos e das concentrações de proteínas plasmáticas totais, apresentaram uma correlação negativa com os valores de opg, ou seja, quanto maior a contagem de opg, menores os valores do Ht, Hb, RBC e PPT.

Os valores do hematócrito do grupo B e da concentração de hemoglobina dos subgrupos B e C, estavam abaixo dos valores considerados normais para os ovinos (anexo Tabela 31). Os valores das proteínas plasmáticas também estavam diminuídos nos grupos B e C, indicando hipoproteïnemia que, associada com baixos valores do hematócrito e da concentração de hemoglobina, podem ter sido causados pela infecção por nematódeos gastrintestinais.

**Tabela 25:** Valores médios de opg, contagem de eosinófilos, hematócrito (Ht), concentração de hemoglobina (Hb), contagem total de eritrócitos (RBC) e proteínas plasmáticas totais (PPT) dos grupos dos cordeiros no primeiro pico de infecção parasitária (17/11/98 e 01/12/98).

Grupos	opg	Contagem de eosinófilos /mm <sup>3</sup>	Ht (%)	Hb (g/dl)	RBC x10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup>	PPT (g/dl)
A	571,87 <sup>a</sup>	54,58	31,56 <sup>a</sup>	10,97 <sup>a</sup>	11,74 <sup>a</sup>	5,59 <sup>a</sup>
B	3475,00 <sup>b</sup>	87,49	25,75 <sup>b</sup>	8,24 <sup>b</sup>	9,04 <sup>b</sup>	4,92 <sup>b</sup>
C	3875,00 <sup>b</sup>	73,43	27,00 <sup>b</sup>	8,93 <sup>b</sup>	10,35 <sup>c</sup>	5,10 <sup>b</sup>

Letras diferentes indicam diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ) entre os grupos.

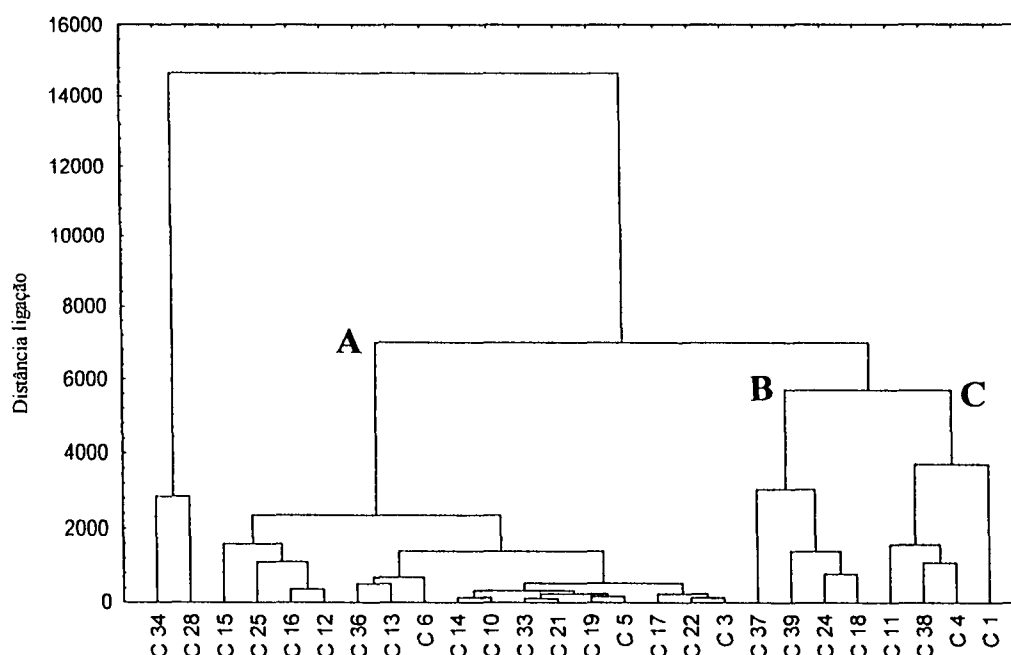
### Hipótese 2:

Para a construção deste dendograma foram utilizados os valores de opg e dos parâmetros sanguíneos (contagem de eosinófilos, Ht, Hb, RBC e PPT) referentes as colheitas de fezes e de sangue do segundo pico de parasitismo de janeiro e fevereiro (26/01/99 e 09/02/99), quando a média de idade dos cordeiros era de sete meses.

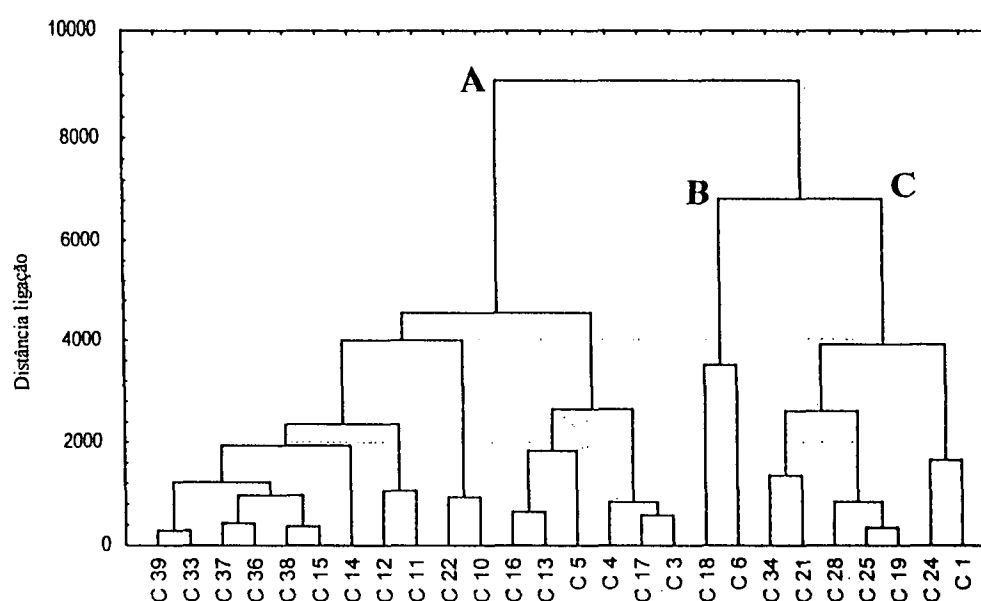
O agrupamento obtido separou o rebanho em três grupos (A, B e C). A primeira dicotomia ocorre com distância euclidiana de ligação de 9000. A segunda dicotomia foi observada a uma distância euclidiana de 7000. O grupo A é formado por 17 animais, representando 65,38% do rebanho. O grupo B é formado por dois animais, representando 7,69% do rebanho dos cordeiros, enquanto que o grupo C é formado por sete animais, representando 26,93% do rebanho (Figura 14).

Neste pico de infecção observou-se diferença significativa ( $p < 0,05$ ) para os valores de opg e proteínas plasmáticas totais entre o grupo A e os demais (B e C). Os demais parâmetros não apresentaram diferença significativa (Tabela 26).





**Figura 13:** Dendrograma construído segundo método ascendente hierárquico, utilizando a distância euclidiana a linhas completas. Foram utilizados os dados de opg, contagem de eosinófilos, série vermelha do sangue e proteínas plasmáticas totais das colheitas de 17/11/98 e 01/12/98 dos cordeiros.



**Figura 14:** Dendrograma construído segundo método ascendente hierárquico, utilizando distância euclidiana a linhas completas. Foram utilizados dados de opg, contagem de eosinófilos, da série vermelha do sangue e das proteínas plasmáticas totais referentes as colheitas de 26/01/99 e 09/02/99, dos cordeiros.

**Tabela 26:** Valores médios de opg, contagem de eosinófilos, hematócrito (Ht), concentração de hemoglobina (Hb), contagem total de eritrócitos (RBC) e proteínas plasmáticas totais (PPT) dos grupos dos cordeiros no segundo pico de infecção parasitária (26/01/99 e 09/02/99).

Grupos	opg	Contagem de eosinófilos /mm <sup>3</sup>	Ht (%)	Hb (g/dl)	RBC x10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup>	PPT (g/dl)
A	2179,41 <sup>a</sup>	104,59	27,97	9,43	8,00	5,66 <sup>a</sup>
B	4950,00 <sup>b</sup>	285,93	26,75	8,82	7,90	6,00 <sup>a</sup>
C	5342,85 <sup>b</sup>	65,17	27,14	8,66	7,94	5,30 <sup>b</sup>

Letras diferentes indicam diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ) entre os grupos.

### Hipótese 3:

Para a construção desta hipótese foram utilizados os valores de opg e dos parâmetros sanguíneos (contagem de eosinófilos, Ht, Hb, RBC e PPT) referentes a uma única colheita de fezes e de sangue que corresponde ao terceiro pico de infecção parasitária em 6/04/99. Este pico ocorreu no outono quando a média de idade dos cordeiros era de dez meses. O cordeiro de número 33 foi excluído do experimento.

O agrupamento obtido com os parâmetros supracitados separou os animais em três grupos (A, B e C). A primeira dicotomia ocorre com distância euclidiana de ligação de 8000. O grupo A é formado por 14 animais (56,0% do rebanho). Os grupos B e C são formados por oito (32,0% do rebanho) e três animais (12,0% do rebanho), respectivamente (Figura 15).

Foram observadas diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre o grupo A e os grupos B e C para os valores de opg, hematócrito e concentração de hemoglobina (Tabela 27).

Nesta colheita de sangue os cordeiros dos grupos B e C apresentaram sinais de anemia e hipoproteinemia, com valores do hematócrito, concentração de hemoglobina, contagem total de eritrócitos e concentrações de proteínas plasmáticas totais abaixo dos valores de referência para a espécie ovina (anexo Tabela 31).

**Tabela 27:** Valores médios de opg, contagem de eosinófilos, hematócrito (Ht), concentração de hemoglobina (Hb), contagem total de eritrócitos (RBC) e proteínas plasmáticas totais (PPT) dos grupos dos cordeiros no terceiro pico de infecção parasitária (06/04/99).

Grupos	opg	Contagem de eosinófilos /mm <sup>3</sup>	Ht (%)	Hb (g/dl)	RBC x10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup>	PPT (g/dl)
A	1335,70 <sup>a</sup>	110,26	23,00 <sup>a</sup>	7,04 <sup>a</sup>	8,80	5,33
B	4637,50 <sup>b</sup>	112,88	24,50 <sup>a</sup>	8,08 <sup>a</sup>	7,45	5,20
C	7900,00 <sup>c</sup>	63,53	27,92 <sup>c</sup>	9,53 <sup>c</sup>	8,53	5,56

Letras diferentes indicam diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ) entre os grupos.

#### Hipótese 4:

Para a construção desta hipótese, foram utilizados os valores de opg e dos parâmetros sanguíneos (contagem de eosinófilos, Ht, Hb, RBC e PPT) com dados referentes a uma única colheita correspondente ao quarto pico de infecção parasitária (04/05/99), quando a média de idade dos cordeiros era de onze meses. Os cordeiros de número 01 e 19 não foram incluídos nesta análise porque apresentaram valores discrepantes de opg (27900 e 17100, respectivamente).

Neste dendograma, o agrupamento obtido separou o rebanho dos cordeiros em três grupos A, B e C. O grupo A é formado por dez animais, o que representa 43,48% do rebanho. O grupo B possui nove cordeiros e o grupo C possui quatro animais, representando 39,13% e 17,39% do rebanho, respectivamente (Figura 16).

Os valores de opg, do hematócrito, da concentração de hemoglobina e das proteínas plasmáticas totais entre o grupo A e os grupos B e C, apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ) (Tabela 28).

Observa-se uma correlação negativa entre os valores de opg e os parâmetros sanguíneos da série vermelha e das proteínas plasmáticas totais. Portanto, cordeiros com alta contagem de opg apresentam menores valores de hematócrito, concentração de hemoglobina,

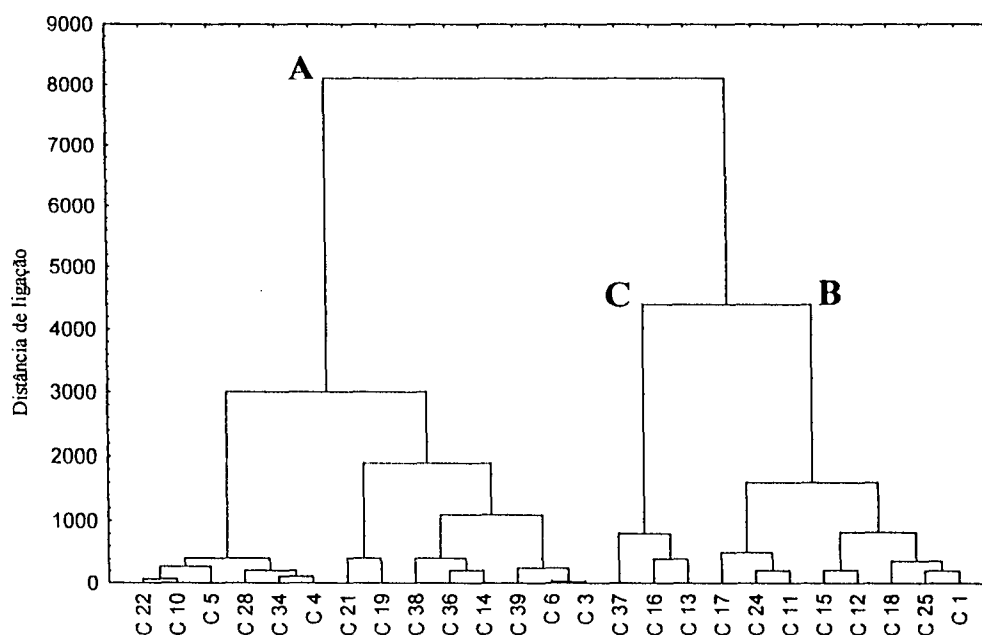
contagem total de eritrócitos e proteínas plasmáticas totais. ALBERS *et al.* (1990) observaram esta mesma correlação em cordeiros, com aproximadamente seis meses de idade, infectados experimentalmente com larvas de *Haemonchus contortus* no trigésimo segundo dia pós-infecção.

Os animais do grupo B e do grupo C, apresentaram valores do hematócrito, da concentração de hemoglobina, contagem total de eritrócitos e concentrações de proteínas plasmáticas totais abaixo do valor de referência para a espécie ovina (anexo Tabela 31). A diminuição destes parâmetros sanguíneos sugere uma condição de anemia e hipoproteinemia causados pela infecção parasitária (JAIN, 1993), pois os parasitos do gênero *Haemonchus sp.* têm comportamento hematófago, causando hemorragia no abomaso (ALBERS *et al.*, 1990).

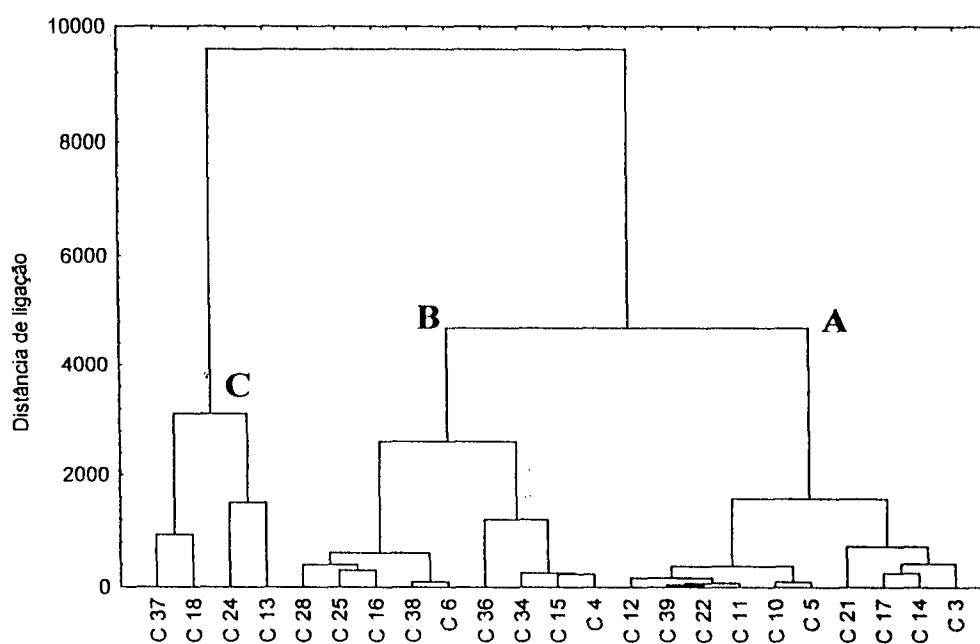
**Tabela 28:** Valores médios de opg, contagem de eosinófilos, hematócrito (Ht), concentração de hemoglobina (Hb) e contagem total de eritrócitos (RBC) e proteínas plasmáticas totais (PPT) dos grupos dos cordeiros no quarto pico de infecção parasitária (04/05/99).

Grupos	opg	Contagem de eosinófilos /mm <sup>3</sup>	Ht (%)	Hb (g/dl)	RBC X10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup>	PPT (g/dl)
A	620,00 <sup>a</sup>	210,62	27,60 <sup>a</sup>	9,32 <sup>a</sup>	8,10 <sup>a</sup>	5,86 <sup>a</sup>
B	3622,22 <sup>b</sup>	224,99	23,88 <sup>b</sup>	8,33 <sup>b</sup>	7,33 <sup>a</sup>	5,35 <sup>b</sup>
C	8475,00 <sup>c</sup>	305,46	22,75 <sup>b</sup>	7,44 <sup>b</sup>	6,53 <sup>b</sup>	5,05 <sup>b</sup>

Letras diferentes indicam diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ) entre os grupos.



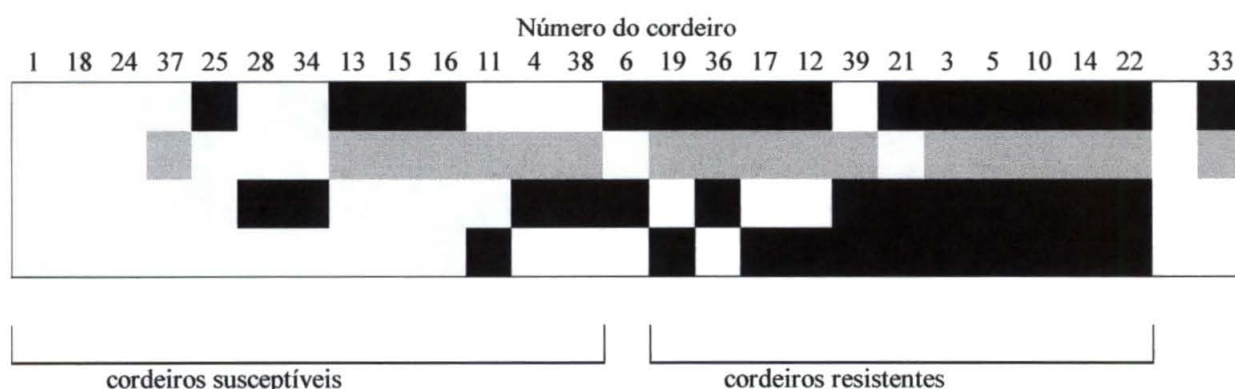
**Figura 15:** Dendrograma construído segundo método ascendente hierárquico, utilizando distância euclidiana a linhas completas. Foram utilizados os dados de opg, contagem de eosinófilos, série vermelha dos sangue e proteínas plasmáticas totais de 25 cordeiros em 06/04/99.



**Figura 16:** Dendrograma construído segundo método ascendente hierárquico, utilizando distância euclidiana a linhas completas. Foram utilizados dados de opg, contagem de eosinófilos, série vermelha do sangue e proteínas plasmáticas totais de 23 cordeiros em 04/05/99.

Na análise das quatro hipóteses construídas sempre observa-se a formação de três grupos de animais (A, B e C). Quando se analisa a média de ovos de helmintos excretadas, verifica-se que o grupo A oscila de 571,87 opg na primeira hipótese, 2179,41 opg na segunda hipótese, 1335,70 opg na terceira e 620 opg na quarta hipótese. O grupo B oscila entre 3475 opg (hipótese 1) a 4950 opg (hipótese 2). O grupo C apresentou em todas as hipóteses opg elevado, com as médias variando entre 3875 opg a 8475 opg. Desta forma, o grupo A foi classificado como animais resistentes, o grupo B animais intermediários e o grupo C como animais susceptíveis ao parasitismo.

Na formação dos grupos, nas diferentes hipóteses, verifica-se que há uma oscilação entre os animais que constituem os grupos (Tabela 29). Ao analisar o comportamento dos animais nas diferentes hipóteses, é possível observar que os animais C1, C18, C24 e C37 sempre integraram o grupo susceptível. Os animais C25, C28, C34, C13, C15 e C16, também integraram este grupo após duas infecções maciças, com valores elevados de opg. Os animais C11, C4, C38, C6, C19 e C36 oscilaram entre os grupos resistente e susceptível. Uma nova análise destes animais permitiria, com maior segurança, definir a que grupo pertencem. Os animais C12, C17, C39, C21, C3, C5, C10, C14 e C22 poderiam integrar o grupo de animais resistentes, uma vez que na maioria das hipóteses, estes animais integraram este grupo. Foram considerados 13 cordeiros como susceptíveis, o que representa 52,0% do rebanho, um cordeiro intermediário (C6), o que representa 4,0% do rebanho e onze cordeiros resistentes, representando 44,0% do rebanho.



**Figura 17:** classificação dos cordeiros em grupos susceptíveis, intermediários e resistentes ao parasitismo gastrointestinal, de acordo com as quatro hipóteses propostas.

**Tabela 29:** Separação dos cordeiros em grupos susceptível, intermediário e resistente à infecção por helmintos gastrintestinais em cada pico de parasitismo.

Número do cordeiro	Grupos do pico 1 (17/11/98 e 01/12/98)	Grupos do pico 2 (26/01/99 e 09/02/99)	Grupos do pico 3 (06/04/99)	Grupos do pico 4 (04/05/99)
1	S	S	S	S
18	S	S	S	S
24	S	S	S	S
37	S	I	S	S
25	R	S	S	S
28	S	S	R	S
34	S	S	R	S
13	R	I	S	S
15	R	I	S	S
16	R	I	S	S
11	S	I	S	R
4	S	I	R	S
38	S	I	R	S
6	R	S	R	S
19	R	I	S	R
36	R	I	R	S
17	R	I	S	R
12	R	I	S	R
39	S	I	R	R
21	R	S	R	R
3	R	I	R	R
5	R	I	R	R
10	R	I	R	R
14	R	I	R	R
22	R	I	R	R
33	R	I	ausente	ausente

## 5. DISCUSSÃO

A metodologia desenvolvida, no presente estudo, foi usada no sentido de identificar parâmetros que pudessem refletir a habilidade dos ovinos em resistir ao desafio dos nematódeos, para a melhor compreensão do desenvolvimento da resistência dos ovinos aos parasitos e para o estudo de marcadores a serem usados na identificação de hospedeiros resistentes.

A habilidade dos ovinos em resistir aos nematódeos parece estar sob controle genético (BUDDLE *et al.* 1992). Para detectar este controle e selecionar animais resistentes, as variações na quantidade de ovos de helmintos por grama de fezes (opg), utilização de diferentes parâmetros sanguíneos para o processo de seleção, comparações entre raças ovinas e também a exposição dos animais à infecções experimentais têm sido estudados. Na década de 90 um grande número de trabalhos científicos foram realizados, em diferentes regiões de criação de ovinos, visando desenvolver alguma arma a mais para favorecer o hospedeiro na luta contra o parasitismo (BUDDLE *et al.*, 1992; PERNTHANER *et al.*, 1995; WOOLASTON *et al.*, 1996; BAHIRATAHAN *et al.*, 1996; SOTOMAIOR, 1997; AMARANTE *et al.*, 1999). Todavia, existe muita variação nos resultados destas pesquisas.

Buscando alternativas para identificação e seleção de animais resistentes frente ao parasitismo uma das medidas mais usadas é a quantidade de ovos de helmintos por grama de fezes (opg). CABARET, GASNIER & JACQUIET (1998) comprovaram que há uma boa relação entre a contagem de ovos por grama de fezes e a carga parasitária de ovinos e caprinos em diferentes ambientes, principalmente quando o gênero *Haemonchus sp.* estava presente. Desta forma, ao se utilizar o opg como critério de seleção, assume-se que há uma



relação confiável entre o opg e a carga parasitária. Além disto, esta relação fornece informações importantes sobre o “status” de parasitismo do indivíduo ou do rebanho.

No presente estudo, verificou-se uma grande variação na quantidade de ovos de helmintos por grama de fezes para o rebanho das ovelhas e dos cordeiros. Estas variações, ocorreram de um mês para outro e num mesmo mês de animal para animal. Assim, pressupõe-se que o opg tenha sido representativo para determinar a carga parasitária do rebanho. Além disso ao observar os resultados das culturas de larvas (Tabelas 03 e 12) verifica-se que *Haemonchus contortus* é a espécie de helminto predominante (61,92% para as ovelhas e 39,0% para os cordeiros), sendo então possível trabalhar com o parâmetro opg sem a necessidade de abater os animais para a caracterização da carga parasitária.

Em determinados períodos do presente experimento observou-se que todos os animais, tanto as ovelhas como os cordeiros, apresentaram valores elevados para o opg, caracterizando os picos de parasitismo. Estes picos foram avaliados com o objetivo de se estabelecer a reação, ou a resposta dos ovinos frente aos desafios parasitários. E para determinar, nos cordeiros, o início das respostas imunológicas. SOTOMAIOR (1997) verificou que o opg como critério de seleção para os ovinos mostrou-se útil para os animais adultos, juntamente com os parâmetros sanguíneos (contagem de eosinófilos, hemoglobina e hematócrito). Para GRAY *et al.* (1995), o opg pode ser um critério extremamente variável. Por estes motivos, outros parâmetros têm sido investigados buscando-se identificar os marcadores ideais para um processo de seleção adequado.

KELLY (1973) *apud* NARI & CARDOZO (1987) comenta que em uma determinada categoria de ovinos, sempre existem indivíduos incapazes de desenvolver resistência aos parasitos. O desenvolvimento deste estado e sua estabilidade dependem fundamentalmente

de fatores hereditários do hospedeiro, da idade, da exposição à infecções prévias, do estado fisiológico e nutricional.

Durante todo este experimento, os ovinos jovens apresentaram valores mais elevados da quantidade de ovos de helmintos por grama de fezes do que os animais adultos. Este fato também já foi observado por WOOLASTON *et al.* (1996), SOTOMAIOR, (1997).

A carga parasitária encontrada nos cordeiros deste estudo demonstrou que houve variabilidade individual, tanto para os animais classificados como susceptíveis quanto para os animais resistentes ao parasitismo. Enquanto que alguns animais apresentaram uma baixa carga parasitária em determinados períodos, outros mantiveram alto grau de parasitismo durante todo o experimento (Figura 17). Em todos os picos de parasitismo, os cordeiros apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ) para os valores de opg entre os grupos considerados susceptíveis e resistentes.

DAWKINS, WINDON & EAGLESON (1989) realizaram infecções experimentais por *Trichostrongylus colubriformis* em cordeiros e encontraram diferença estatística altamente significativa ( $p < 0,001$ ) para os valores de opg entre os animais considerados resistentes e susceptíveis ao parasitismo.

No presente estudo, o opg associado com a contagem de eosinófilos, hematócrito, hemoglobina, contagem total de eritrócitos e proteínas plasmáticas totais, também foram úteis como critérios de seleção para os animais adultos. Para os cordeiros, a associação do opg com os parâmetros sanguíneos mostrou-se satisfatória para a classificação destes animais em grupos resistentes, intermediários e susceptíveis ao parasitismo. Como verificou-se uma oscilação da eliminação de ovos de helmintos nos cordeiros (indivíduos) que constituíam esses grupos, realizou-se uma análise individual destes animais, levando-

se em consideração estes mesmos critérios para uma possível seleção. Foi possível observar que ao longo do experimento, alguns animais sempre apresentaram opg baixo, mesmo nos períodos de maior risco (anexo Tabela 39).

Além do opg, a contagem de eosinófilos é objeto de estudo de vários autores, tanto em animais submetidos à infecção artificial como em animais submetidos à infecção natural por trichostrongilídeos (DAWKINS, WINDON & EAGLESON, 1989; PERNTHANER *et al.*, 1995; WOOLASTON *et al.*, 1995; BAHIRATHAN *et al.*, 1996; WOOLASTON *et al.*, 1996; SOTOMAIOR, 1997, AMARANTE *et al.*, 1999).

Os eosinófilos são considerados, por muito tempo, um importante indicador da infecção parasitária por helmintos. Apesar do papel dos eosinófilos nas infecções por helmintos ainda ser obscuro e objeto de estudo, a eosinofilia já foi associada com a expulsão de parasitos, sugerindo a atuação destas células na resistência do hospedeiro (ROTHWELL & DINEEN, 1972).

WOOLASTON *et al.* (1996) comentam que os eosinófilos podem estar geneticamente relacionados à resistência em algumas circunstâncias. Durante as infecções naturais, vários fatores ambientais e genéticos podem estar interagindo para enfraquecer a associação dos eosinófilos com a resistência. Nas infecções artificiais, esta associação parece ser mais forte, provavelmente devido à sincronização da resposta imune com o estágio da infecção.

No presente estudo, a contagem de eosinófilos mostrou-se um parâmetro útil para a seleção das ovelhas, juntamente com o opg (Figura 12). Com estes dois marcadores e usando uma análise multivariada (a análise de “cluster”) foi possível selecionar as ovelhas em dois grupos (resistente e susceptível). No primeiro grupo, no pico de parasitismo, observou-se uma relação inversa entre opg e eosinófilos, ou seja, os animais mostraram baixa contagem de opg (média de 166,66 opg) e elevada contagem de eosinófilos (média

de 469,16). No segundo grupo também foi constatado uma relação inversa entre opg e eosinófilos. No entanto, para estes animais a média de opg foi de 9125,00 e a média de eosinófilos foi de 192,18.

A formação destes dois grupos distintos foi observada em todas as análises realizadas, isto é, utilizando todos os dados de todas as avaliações realizadas (total de nove), três meses de observação ou apenas um pico de infecção parasitária.

A eosinofilia no sangue periférico também já foi observada em ovelhas geneticamente resistentes ao *Trichostrongylus colubriformis* (DAWKINS, WINDON & EAGLESON, 1989). Estes mesmos autores realizaram infecções experimentais por *Haemonchus contortus* e *Trichostrongylus colubriformis* em ovinos de seis a treze meses de idade e concluíram que a contagem de eosinófilos não oferece vantagem sobre a quantidade de ovos por grama de fezes (opg) como critério de seleção para a resistência.

A associação da eosinofilia e a supressão de opg foi também observada em duas raças ovinas, Suffolk e Finn Dorset, por KIMAMBO *et al.* (1988). Estes autores sugerem que a eosinofilia ocorre em consequência à fixação, na mucosa intestinal, das larvas e estádios de desenvolvimento do *Trichostrongylus colubriformis*, estimulando a resposta do hospedeiro.

DAWKINS, WINDON & EAGLESON (1989) observaram em ovinos da raça Merino, que o número de eosinófilos era maior nos animais resistentes do que nos animais susceptíveis, quando a seleção era baseada no opg após a imunização e o desafio larvário artificial com *Trichostrongylus colubriformis*.

BUDDLE *et al.* (1992) observaram uma correlação negativa entre o opg e a contagem de eosinófilos no grupo de animais resistentes, submetidos à infecção natural e artificial por *Trichostrongylus colubriformis*. Esta correlação negativa mostra evidências de que a

eosinofilia está associada com a supressão da quantidade de ovos de helmintos por grama de fezes e está relacionada ao "status" de resistência dos ovinos aos parasitas. Desta forma, a eosinofilia estaria mais associada à expressão de resistência aos nematóides do que como indicador da presença de infecção, o que serviria para avaliar a resposta imunológica.

Em um outro estudo, a contagem de eosinófilos foi investigada em várias populações ovinas, onde os autores observaram que, apesar de útil em algumas situações, não era ideal, por exigir maior número de análises, encarecendo o processo de seleção e um único parâmetro, o opg poderia selecionar os animais (WOOLASTON *et al.*, 1996).

Neste estudo, as ovelhas do grupo susceptível apresentaram o menor valor médio da contagem de eosinófilos em relação ao grupo de animais resistentes no pico de parasitismo. Estes resultados mostram que a média de eosinófilos das ovelhas consideradas resistentes (com baixo opg) é superior aos das consideradas susceptíveis (com alto opg), demonstrando a resistência aos nematódeos.

Para os cordeiros observou-se uma grande variação individual na contagem de eosinófilos. Em nenhum dos picos de infecção parasitária deste estudo, foi observada diferença significativa na contagem de eosinófilos entre os cordeiros considerados susceptíveis e resistentes ao parasitismo. Verificou-se o início das respostas imunológicas após o pico de infecção parasitária do verão (segundo pico), quando os animais tinham em média sete meses de idade e quando todos os cordeiros tiveram contato com parasitos, apesar de haver grande variação individual. Desta forma, foi possível a seleção dos cordeiros, avaliando os animais individualmente e classificando-os em grupos resistente e susceptível (Tabela 29). A mesma observação foi feita quando os animais tinham nove e onze meses de idade. Estes resultados corroboram com vários autores que observaram que antes dos dez meses de idade, os cordeiros não são capazes de produzir uma resposta

imune efetiva contra *Haemonchus contortus* e *Trichostrongylus colubriformis* (MANTON *et al.*, 1962; URQUHART *et al.*, 1966; GIBSON & PARFITT, 1972). SOTOMAIOR (1997), investigou a relação do parasitismo com a contagem de eosinófilos em cordeiros que tinham entre quatro e cinco meses de idade, não encontrando diferença estatística significativa entre os grupos de animais classificados como resistentes ou susceptíveis. No entanto, já foi citado que a competência imunológica do ovino começa a se desenvolver entre o sexto e nono mês de idade, não sendo conveniente submeter animais jovens a grandes desafios larvários, já que isto poderia levar o sistema imunitário a um fenômeno de esgotamento (KELLY, 1973 *apud* NARI & CARDOZO, 1987).

BAHIRATHAN *et al.* (1996) estudaram a susceptibilidade de cordeiros, das raças Suffolk e Gulf Coast Native, à infecção por nematódeos naturalmente adquirida, monitorando os cordeiros desde o nascimento até um ano de idade. Com relação aos valores da contagem de eosinófilos no sangue periférico, os resultados encontrados foram semelhantes para as duas raças, não sendo útil para avaliar a resistência da raça em animais imunoincompetentes. Ao contrário destes autores, DAWKINS, WINDON & EAGLESON (1989), encontraram diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ) para a contagem de eosinófilos entre animais resistentes e susceptíveis ao parasitismo, submetidos à infecção experimental por *Trichostrongylus colubriformis* com aumento contínuo da contagem de eosinófilos até os sete meses de idade.

AMARANTE *et al.* (1999) não constataram evidências de uma possível associação entre a carga parasitária e a contagem de eosinófilos em cordeiros de até quatro meses de idade mantidos em pastagens contaminadas por nematódeos. Estes autores encontraram muitas variações nas médias das contagens de eosinófilos e da quantidade de ovos de helmintos por grama de fezes. Da mesma forma que PERNTHANER *et al.* (1995), também

não encontraram correlação significativa entre a contagem de eosinófilos e as alterações do opg, em cordeiros selecionados geneticamente, submetidos à infecção artificial acompanhados semanalmente. Para estes autores, não há consistência na relação entre a quantidade de ovos de helmintos por grama de fezes e os eosinófilos, sugerindo que os eosinófilos sanguíneos podem não ter uma ação direta em mediar a resistência aos parasitos.

No experimento conduzido neste trabalho foram utilizados indivíduos de um mesmo rebanho e com idades próximas, onde foi possível observar grande variabilidade na resposta eosinofílica destes animais em relação ao opg. Assim, esta variabilidade pode estar relacionada com a idade dos cordeiros no que diz respeito ao estabelecimento da resposta imune ou devido à influência de fatores como o uso de antihelmínticos, desafios larvais e o ambiente. Todos estes fatores já foram citados por BUDDLE *et al.* (1992) que sugerem que as comparações só podem ser feitas entre indivíduos de um mesmo grupo em períodos específicos.

Os valores das concentrações de proteínas plasmáticas totais dos cordeiros, em todos os picos de infecção parasitária, estiveram sempre abaixo dos valores de referência da espécie ovina, tanto para os animais considerados susceptíveis como para os animais resistentes. Tal fato pode ser atribuído a diversas causas. A concentração de proteínas plasmáticas totais é baixa nos animais recém-nascidos, geralmente valores inferiores a cinco g/dl. O nível da concentração de proteínas plasmáticas totais aumenta gradualmente até alcançar a variação normal de seis a oito g/dl, a partir dos seis meses de idade. Além disto, os parasitos dos gêneros *Haemonchus sp.*, *Trichostrongylus sp.* e *Ostertagia sp.*, promovem a hipoproteïnemia nutricional, causada pela diminuição do consumo de

alimentos e água pelos animais. Estes parasitos também provocam a perda de proteínas juntamente com as hemorragias do trato gastrintestinal (JAIN, 1993).

No presente trabalho o hematócrito mostrou-se um bom indicador do parasitismo, tanto para os animais adultos quanto para os jovens. Este parâmetro apresentou correlação negativa com a quantidade de ovos de helmintos por grama de fezes no primeiro, terceiro e quarto picos de parasitismo dos cordeiros. Apesar dessa correlação não ter sido observada nos animais adultos, no pico de parasitismo destes animais, alguns indivíduos apresentaram valores baixos de hematócrito. BAHIRATHAN *et al.* (1996) encontraram valores elevados de opg e baixos valores de hematócrito, que variavam entre 10 a 12%, em cordeiros com três meses de idade. Estes autores relatam óbito de alguns animais que apresentavam sinais clínicos de anemia. AMARANTE *et al.* (1999) também observaram baixos valores de hematócrito em cordeiros da raça Rambouillet parasitados.

WOOLASTON (1996) sugere que o hematócrito é um parâmetro útil para a seleção de animais resistentes, particularmente quando o parasito sob investigação é o *Haemonchus contortus*. Para este autor, o hematócrito parece ser tão útil quanto a quantidade de ovos de helmintos por grama de fezes (opg), pois está altamente correlacionado com o opg quando há desafio por *Haemonchus contortus*. Contudo, parece não ser tão útil quando a infecção é causada por *Trichostrongylus sp.* ou *Ostertagia circumcincta* (WOOLASTON & PIPER, 1996).

No presente estudo, nos agrupamentos obtidos para a seleção das ovelhas, o hematócrito mostrou-se eficiente quando associado ao opg e com os outros parâmetros sanguíneos (concentração de hemoglobina, contagem total de eritrócitos e proteínas plasmáticas totais). Assim, ele parece ser um bom parâmetro para a seleção mesmo quando a infecção parasitária é causada por parasitas dos gêneros *Haemonchus sp.* e



*Trichostrongylus sp.*, como demonstram os resultados das culturas de larvas das ovelhas (Tabela 03).

No pico de parasitismo das ovelhas, observou-se uma diferença significativa ( $p < 0,05$ ) para os valores médios da contagem total de leucócitos e contagem de eosinófilos entre os grupos susceptível e resistente. Verificou-se uma correlação positiva entre esses valores, ou seja, quanto maior a contagem total de leucócitos, maior a contagem total de eosinófilos no grupo resistente. Isto sugere que há uma relação entre a contagem total de leucócitos e a contagem de eosinófilos, uma vez que o eosinófilo é um leucócito granulócito. Assim como houve uma correlação negativa entre o opg e a contagem de eosinófilos, houve também uma correlação negativa entre o opg e a contagem total de leucócitos. PERNTHANER *et al.* (1995) não observaram correlação significativa entre o opg e a contagem total de leucócitos entre ovinos selecionados geneticamente para a resistência. Todavia, foram animais submetidos à infecção experimental e com seis meses de idade.

As ovelhas com maior quantidade de ovos de helmintos por grama de fezes (grupo susceptível) apresentaram o menor valor da concentração de hemoglobina. Isto demonstra uma correlação negativa entre o opg e a concentração de hemoglobina. Esta diferença foi observada somente na colheita correspondente ao pico de infecção, quando o nível de parasitismo estava elevado.

Para a classificação de animais em resistentes e susceptíveis, a análise de cluster foi efetiva pois todos os caracteres/parâmetros estudados para a seleção puderam ser utilizados. Além disso, permitiu que fosse determinado um nível de corte de opg apropriado ao grau de infecção dos animais. Assim, foram considerados os valores de opg, que refletem a carga parasitária e também os parâmetros sanguíneos (hematócrito,

concentração de hemoglobina, contagem total de eritrócitos e proteínas plasmáticas totais) que indicam os efeitos do parasitismo nos animais. Em relação ao comportamento dos ovinos frente ao parasitos, a contagem de eosinófilos se mostrou como um bom critério de seleção para animais adultos.

Os resultados do presente estudo demonstram que há um grupo de animais susceptíveis, tanto no rebanho das ovelhas como no rebanho dos cordeiros. Estes animais apresentaram alta quantidade de ovos de helmintos por grama de fezes e são os responsáveis pela contaminação das pastagens. Desta forma, uma das contribuições do processo de seleção dos animais resistentes, seria impedir a contaminação do pasto, eliminando ou confinando os animais susceptíveis do rebanho. No entanto, deve-se lembrar que para um programa efetivo de seleção, índices de produtividade como características reprodutivas e zootécnicas desejáveis também precisariam ser avaliadas.

Quanto ao rebanho das ovelhas, a seleção baseada somente no opg, ou somente no hematócrito ou na contagem de eosinófilos, em uma única colheita do pico de parasitismo no período do outono, poderia ser efetiva.

Analisando-se cada cordeiro separadamente (Tabela 29), foi possível realizar a seleção, onde verificou-se que 38,4% do rebanho dos cordeiros mostraram-se resistentes ao parasitismo. No entanto, estes resultados foram encontrados após a análise de quatro picos de parasitismo. Verificou-se que após o pico de parasitismo do verão, quando todos os cordeiros tiveram contato com os parasitos, os animais apresentaram um comportamento mais regular frente aos desafios larvários.

Para os animais jovens, um único parâmetro não seria útil para um processo de seleção, pois os resultados aqui encontrados apresentaram ampla variação individual, provavelmente devido a imaturidade do sistema imunológico. Contudo, apesar desta

variação individual, observou-se que alguns animais apresentaram algum tipo de resposta, considerando-se principalmente a quantidade de ovos de helmintos por grama de fezes como critério de seleção. Assim, com os parâmetros usados neste experimento, antes de um ano de idade é difícil selecionar os animais.

## 6. CONCLUSÃO

O método baseado na análise de cluster, considerando o opg como marcador parasitológico e a contagem de eosinófilos, hematócrito, concentração de hemoglobina, contagem total de eritrócitos e proteínas plasmáticas totais como marcadores hematológicos, foi eficiente para a classificação dos animais em resistentes ou susceptíveis ao parasitismo.

Para os animais adultos (ovelhas), foi possível realizar a seleção utilizando-se apenas os dados do opg associados com a contagem de eosinófilos e a série vermelha do sangue referentes a uma colheita de fezes e de sangue, correspondente ao pico de parasitismo no período do outono.

Quanto ao rebanho dos cordeiros, foi possível selecionar os animais avaliando-se os dados do opg associados com a contagem de eosinófilos, hematócrito, concentração de hemoglobina e contagem total de eritrócitos correspondentes a quatro picos de parasitismo. O ideal é que se inicie o acompanhamento dos cordeiros após os sete meses de idade, avaliando os animais individualmente, utilizando-se como parâmetros para a seleção o opg, a contagem de eosinófilos e a série vermelha do sangue, sendo necessário analisar mais de um pico de parasitismo.

Os gêneros *Trichostrongylus sp.* e *Haemonchus sp.* associados representaram 82,0% das infecções parasitárias das ovelhas e dos cordeiros. O gênero *Trichostrongylus sp.* apresentou maior incidência no período do inverno e o gênero *Haemonchus sp.*, no período do verão e outono.

## **PERSPECTIVAS**

A seleção para a resistência geralmente requer que os animais sejam expostos aos parasitos para que o efeito da carga parasitária no hospedeiro possa ser observado. Para evitar a exposição do hospedeiro aos desafios parasitários, principalmente às infecções experimentais, e com o avanço da imunogenética, faz-se necessário que novas metodologias sejam pesquisadas como alternativa à seleção baseada somente na quantidade de ovos de helmintos por grama de fezes. Como por exemplo o sistema OLA (Ovine Lymphocyte Antigens), pesquisa de antígenos fecais, anticorpos séricos circulantes e marcadores genéticos moleculares.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H.; POBER, J.S. **Imunologia celular e molecular**, 2ª edição, Revinter, Rio de Janeiro, 469p., 1998.
- ALBERS, G.A.A; GRAY, G.D.; PIPER, L.R.; BARKER, J.S.F.; LE JAMBRE, L.F.; BARGER, I.A. The genetics of resistance and resilience to *Haemonchus contortus* infection in young Merino sheep. **International Journal for Parasitology**, v. 17, n. 7, p. 1355-1363, 1987.
- ALBERS, G.A.A; GRAY, G.D.; LE JAMBRE, L.F.; BARGER, I.A.; BARKER, J.S.F. The effect of *Haemonchus contortus* infection on haematological parameters in young merino sheep and its significance for productivity. **Animal Production**, v. 50, p. 99-109, 1990.
- ALLONBY, E.W.; URQUHART, G.M. A possible relationship between haemonchosis and haemoglobin polymorphism in Merino sheep in Kenya. **Research in Veterinary Science**, v.20, p.212-214, 1976.
- ALTAIF, K. I.; DARGIE, J.D. Genetic resistance to helminths. Comparison of the development of *Ostertagia circumcincta* infections in Scottish Blackface sheep of different haemoglobin type. **Research in Veterinary Science**, v.24, 391-393, 1978.
- ANDERSON, R.C. **Nematode Parasites of Vertebrates – their development and transmission**. CAB International, UK, 578p.,1992.
- AMARANTE, A.F.T.; CRAIG, T.M.; RAMSEY, W.S.; et al. Nematode burdens and cellular responses in the abomasal mucosa and blood of Florida Native, Rambouillet and crossbreed lambs. **Veterinary Parasitology**, 80: 311-324, 1999.
- BAHIRATHAN, M.; MILLER, J.E.; BARRAS, S.R. *et al.* Susceptibility of Suffolk And Gulf Coast Native suckling lambs to naturally acquired strongylate nematode infection. **Veterinary Parasitology**, v. 65, p. 259-268, 1996.

BECK, T.; MOIR, B.; MEPPEN, T. The cost of parasites to the Australian sheep industry. **Quarterly Review of the Rural Economy**, v. 7, p. 336-343, 1985.

BEKELE, T.; KASALI, O.B.; REGE, J.E.O. Repeatability of measurements of packed cell volume and egg count as indicators of endoparasite load and their relationship with sheep productivity. **Acta Tropica**, v. 50, p. 151-160, 1992.

BISSET, S.A.; VLASSOFF, A.; MORRIS, C.A.; SOUTHEY, B.R.; BAKER, R.L.; PARKER, A.G.H. Heritability of and genetic correlations among faecal egg counts and productivity traits in Romney sheep. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, n.35, p. 51-58, 1992.

BLUNT, M.H.; EVANS, J.V. Changes in the concentration of potassium in the erythrocytes and in haemoglobin type in Merino sheep under a severe anaemic stress. **Nature**, v.200, n. 4912, p.1215-1216, 1963.

BOWMAN, D.D. **Georgis' Parasitology for Veterinarians**. W.B.Saunders, Philadelphia, 7<sup>th</sup> edition, 430p., 1999.

BUDDLE, B.M.; JOWETT, G.; GREEN, R.S.; DOUCH, P.G.C.; RISDON, P.L. Association of blood eosinophilia with the expression of resistance in Romney lambs to nematodes. **International Journal for Parasitology**, v. 22, n. 7, p. 955-960, 1992.

BUTTERWORTH, A.E e DAVID, J.R. Eosinophil Function. **The New England Journal of Medicine**, 304, p. 154-156, 1981.

CABARET, J.; GASNIER, N.; JACQUIET, P. Faecal egg counts are representative of digestive-tract strongyle worm burdens in sheep and goats. **Parasite**, n.5, p. 137-142, 1998.

CHIMINAZZO, C.; RIBEIRO, L.A.O.; WEIMWER, T. *et al.* Correlação dos tipos de hemoglobina com a resistência à verminose em ovinos da raça Corriedale. **XV Panvet Abstracts**, p.307, 1996.

- COLES, C.G.; BORGSTEED, H.M.F.; GEERTS, S. Recommendations for the control of anthelmintic resistant nematodes of farm animals in the EU. **Veterinary Record**, v.134, p.205-206, 1994.
- DAWKINS, H.J.S.; WINDON, R.G.; OUTERIDGE, P.M.; DINEEN, J.K. Cellular and humoral responses of sheep with different levels of resistance to *Trichostrongylus colubriformis*. **International Journal for Parasitology**, v. 18, n. 4, p. 531-537, 1988.
- DAWKINS, H.J.S.; WINDON, R.G.; EAGLESON, G.K. Eosinophil responses in sheep selected for high and low responsiveness to *Trichostrongylus colubriformis*. **International Journal for Parasitology**, v. 19, n. 2, p. 199-205, 1989.
- DRUDGE, J.H. et al. Field studies on parasite control in sheep: comparisons of thiabendazole, ruelene, and phenothiazine. **Am. J. Vet. Res**, v.25, p.1512-1518, 1964.
- EADY, S. How to find highly productive rams that are worm resistant. **Nemesis**, Austrália, jun. 1997.
- ECHEVARRIA, F.A.; TRINDADE, G.N. Anthelmintic resistance by *Haemonchus contortus* to ivermectin in Brazil: a preliminary report. **Veterinary Record**, v.124, p.147-148, 1989.
- EDDI, C.; CARACOSTANTOGOLO, J. et al. The prevalence of anthelmintic resistance of sheep in Southern Latin America: Argentina. **Veterinary Parasitology**., 62, p.189-197, 1996.
- EVANS, J.V.; BLUNT, M.H.; SOUTHCOTT, W.H. The effects of infection with *Haemonchus contortus* on the sodium and potassium concentrations in the erythrocytes and plasma, in sheep of different haemoglobin types. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.14, p.549-558, 1963.



- FARIAS, M.T.; BORDIN, E.L.; FORBES, A.B.; NEWCOMB, K. A survey on resistance to anthelmintics in sheep stud farms of southern Brazil. **Veterinary Parasitology**, 72, p.209-214, 1997.
- GARCIA-NAVARRO, C.E.K.; PACHALY, J.R. **Manual de Hematologia Veterinária**, Livraria Varela, São Paulo, 196p., 1994.
- GASBARRE, L.C. Effects of gastrointestinal nematode infection on the ruminant immune system. **Veterinary Parasitology**, 72, p.327-343, 1997.
- GIBSON, T.E.; PARFITT, J.W. The effect of age on the development by sheep of resistance to *Trichostrongylus colubriformis*. **Res. Vet. Sci.**, 13: 529-535, 1972.
- GILL, H.S. Genetic control of acquired resistance to haemonchosis in Merino lambs. **Parasite Immunology**, v. 13, p. 617-628, 1991.
- GILL, H.S.; HUSBAND, A.J.; WATSON, D.L.; GARY, G.D. Antibody containing cells in the abomasal mucosa of sheep with genetic resistance to *Haemonchus contortus*. **Research Veterinary Science**, v.56, p.41-47, 1994.
- GLEICH, G.H.; OLSON, G.M.; HERLICH, H. The effect of antiserum to eosinophils on susceptibility and acquired immunity of the guinea-pig to *Trichostrongylus colubriformis*. **Immunology**, 37, p. 873-880, 1979.
- GORDON, H.McL; WHITLOCK, H.V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. **Journal of the Council for Scientific and Industrial Research**, v.12, p.50, 1939.
- GRAY, G.D. The use of genetically resistant sheep to control nematode parasitism. **Veterinary Parasitology**, 72, p. 345-366, 1997.
- HOFFMANN, R. P. **Diagnóstico de Parasitismo Veterinário**. Editora Sulina: Porto Alegre, 1987.

- HUISMAN, T.; VLIET, G. van; SEBENS, T. Sheep haemoglobins: some genetic and physiological aspects of two different adult haemoglobins in sheep. **Nature**, v.182, n.4629, p.171-172, 1958.
- JACKSON, F.; COOP, R.L.; JACKSON, E. et al. Multiple anthelmintic resistant nematodes in goats. **Veterinary Record.**, 130, p.210-211, 1992.
- JAIN, N.C. **Schalm's Veterinary Hematology**. 4 ed., Philadelphia: Lea & Febiger, 1986.
- \_\_\_\_, \_\_\_\_\_. Comparative hematology of common domestic animals. In: \_\_\_\_\_. **Essentials of Veterinary Hematology**. Philadelphia: Lea & Febiger, p.19-52, 1993.
- JILEK, A.F.; BRADLEY, R.E. Haemoglobin types and resistance to *Haemonchus contortus* in sheep. **American Journal of Veterinary Research**, v.30, p. 1773-1778, 1969.
- KASSAI, T.; FÉSUS, L.; HENDRIKX, W.M.L.; et al. Is there a relationship between haemoglobin genotype and the innate resistance to experimental *Haemonchus contortus* infection in Merino lambs? **Veterinary Parasitology**, 37, p.61-77, 1990.
- KEITH, R.K. The differentiation of the infective larval of some common nematode parasites of cattle. **Austr. J. Zool.** 1, (2), 223-230, 1953.
- KERBOUEF, D. L'Augmentation vernale ("spring-rise") de l'élimination des oeufs d'helminthes au cours des strongyloses gastro-intestinales. Etude du déterminisme et des incidences épidémiologiques. **Recueil de Médecine Vétérinaire**, v.154, n.10, p.865-874, 1978.
- KIERAN, P.J. Moxidectin against ivermectin-resistant nematodes – a global view. **Australian Veterinary Journal**, v.71, n.1, p.18-20, 1994.
- KIMAMBO, A.E.; MacRAE, J.C.; WALKER, A.; WATT, C.F.; COOP, R.L. Effect of prolonged subclinical infection with *Trichostrongylus colubriformis* on the performance and nitrogen metabolism of growing lambs. **Veterinary Parasitology.**, 28: 191-203, 1988.

- LIMA, A.O.; SOARES, J.B.; GRECO, J.B.; GALIZZI, J.; CANÇADO, J.R. **Métodos de laboratório aplicados à clínica: técnica e interpretação**. 6 ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1985.
- MACIEL, S. et al. The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep in Southern Latin America: Paraguay. **Veterinary Parasitology**., 62, p.207-212, 1996.
- McEWAN, J. **Breeding sheep resistant to roundworm infection: Breeders' manual**. New Zealand Pastoral Agriculture Research Institute Limited (AgResearch), New Zealand, 1994.
- Mac FARLANE, J.C.W.; CECIL, G.W. Eosinophil counting: a modification of Pilots method. **Brit. Med. J.**, v. 2, p. 1187, 1951.
- MANTON, V.J.A.; PEACOCK, R.; POYNTER, D. The influence of age on naturally acquired resistance to *Haemonchus contortus* in lambs. **Res. Vet. Sci.**, 3: 308-313, 1962.
- MORAES, F.R.; SOCCOL, V.T.; SARNOSKI Jr, S.; SAULT, J.P.E.; OLIVEIRA, V.P.; CASTRO, E.A. Estudo epidemiológico da verminose ovina na Região de Ponta Grossa - PR. **Anais do 6.º EVINCI - Evento de Iniciação Científica da Universidade Federal do Paraná**, Curitiba, p. 427, 1998.
- NARI, A.; CARDOZO, H. Nematodos Gastrointestinales. In...**Enfermedades de los laneros – Tomo I**. Montevideo : Editorial Agropecuaria Hemisferio Sur S.R.L., p.1-51,1987.
- NARI, A.; SALLES, J.; GIL, A. The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites of the sheep in Southern Latin America: Uruguay. **Veterinary Parasitology**, n.62, p.213-222, 1996.
- ORTOLANI, E.L. **Efeitos da suplementação dietética de molibdênio e enxofre sobre a infestação de *Haemonchus contortus* (Rudolphi, 1803), em ovinos. Estudo de alguns aspectos do metabolismo de cobre e sódio, e da resposta celular do hospedeiro**. Tese apresentada para o concurso de livre-docência do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, 1997.

- PERNTHANER, A.; STANKIEWICZ, M.; BISSET, S.A.; JONAS, W.E.; CABAJ, W.; PULFORD, H.D. The immune responsiveness of Romney sheep selected for resistance or susceptibility to gastrointestinal nematodes: lymphocyte blastogenic activity, eosinophilia and total white blood cell counts. **International Journal for Parasitology**, v. 25, n. 4, p. 523-529, 1995.
- PRESSON, B.L.; GRAY, G.D.; BURGESS, S.K. The effect of immunosuppression with dexamethasone on *Haemonchus contortus* infections in genetically resistant Merino sheep. **Parasite Immunology**, 10, p. 675-680, 1988.
- PRESTON, J.M.; ALLONBY, E.W. The influence of breed on the susceptibility of sheep to *Haemonchus contortus* infection in Kenya. **Research in Veterinary Science**, v. 26, p. 134-139, 1979 a.
- RADHAKRISHNAN, C.V.; BRADLEY, R.E.; LOGGINS, P.E. Host response of worm-free Florida Native and Rambouillet lambs experimentally infected with *Haemonchus contortus*. **American Journal of Veterinary Research**, v. 33, n. 4, p. 817-823, 1972.
- ROBERTS, F.H.S.; O'SULLIVAN, P.J. Methods for egg counts and larval cultures for strongyles infecting the gastro-intestinal tract of cattle. **Australian Journal of Agriculture Research**, v. 1, p. 99, 1950.
- ROITT, I.; BROSTOFF, J.; MALE, D. **Immunology**, 5<sup>th</sup>.edition, Mosby, London, 423p., 1998.
- ROTHWELL, T.L.W.; DINEEN, J.K. Cellular reactions in guinea-pigs following primary and challenge infection with *Trichostrongylus colubriformis* with special reference to the roles of eosinophils and basophils in rejection of the parasite. **Immunology**, v. 22, p. 733-745, 1972.
- ROTHWELL, T.L.W.; WINDON, R.G.; HORSBURGH, B.A.; ANDERSON, B.H. Relationship between eosinophilia and responsiveness to infection with *Trichostrongylus colubriformis* in sheep. **International Journal Parasitology**, v.23, p. 203-211, 1993.

- RYTÖMAA, T. Organ distribution and biochemical properties of eosinophils granulocytes in the rat. **Acta Pathologica Microbiologica Scandinavica**, 50 (S140), p.12-18, 1960.
- SANTIAGO, M.A.M.; GONÇALVES, J.C.; BEVENGA, S. O aumento súbito do número de ovos de nematóides nas fezes de ovelhas na época do parto. **Revista Medicina Veterinária**, 5 (3), p.260-266, 1970.
- SANTIAGO, M.A.M; BEVENGA, S.F.; COSTA, U.C. Epidemiologia e controle da helmintose ovina no Município de Itaquí, Rio Grande do Sul. **Pesquisa Agropecuária Brasileira, Série Veterinária**, v.11, p. 1-7, 1976.
- SANTIAGO, M.A.M; COSTA, U.C.; BEVENGA, S. *Trichostrongylus colubriformis* resistente ao levamisole. **Revista Cent. Ciência Rural.**, n.7, p. 421-422, 1977.
- SANTIAGO, M.A.M; COSTA, U.C .Resistência de *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus colubriformis* e *Ostertagia spp.* Ao levamisole. **Revista Cent. Ciência Rural.**, n.9, p. 315-318, 1979.
- SANTIAGO, M.A.M; COSTA, U.C; BEVENGA, S. *Haemonchus contortus* e *Ostertagia circumcincta* resistentes ao levamisole. **Revista Cent. Ciência Rural.**, n.9, p. 101-102, 1979.
- SANTIAGO, M.A.M; COSTA, U.C; BEVENGA, S. *Haemonchus contortus* e *Trichostrongylus colubriformis* resistentes ao tartarato de morantel. In: **Proc. VII Congresso Estadual de Medicina Veterinária**, Gramado, RS, p.45, 1981.
- SANTIAGO, M.A.M; COSTA, U.C; BEVENGA, S. Resistência à raxoxanida em ovinos. **Pesq. Ag. Brasil.**, n. 17, p.1361-1362, 1982.
- SANTOS, V.T.; GONÇALVES, P.C. O aparecimento de *Haemonchus contortus* resistente ao radical benzimidazole em Uruguaiana. In: Congresso Latino Americano de Parasitologia. **Anais.** Santiago, p.105, 1967.
- SEAB. Departamento de Economia Rural. **Acompanhamento da situação agropecuária do Paraná - Prognóstico da Pecuária**, 1999.

- SMYTH, J.D. **Introduction to Animal Parasitology**. Cambridge University Press, 3<sup>rd</sup> edition, 549p., 1994.
- SOCOL, V.T.; SOTOMAIOR, C.; SOUZA, F.P.; CASTRO, E.A.; PESSÔA SILVA, M.C.; MILCZEWSKI, V. Occurrence of resistance to anthelmintics in sheep in Paraná State, Brazil. **Veterinary Record**, v. 139, p. 421-422, 1996.
- SOTOMAIOR, C. **Estudo de caracteres que possam auxiliar na identificação de ovinos resistentes e susceptíveis às helmintoses gastrintestinais**. Curitiba, 1997. Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.
- SOUZA, F.P. **Contribuição para o estudo de resistência dos helmintos gastrintestinais de ovinos (*Ovis aries*) aos anti-helmínticos no Estado do Paraná**. Curitiba, 1997. Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.
- SOUZA, A.P.; BELLATO, V.; RAMOS, C.I. Resistência do *Haemonchus contortus* ao ivermectin e ao albendazole. In: **Proc. VIII Seminário Brasileiro de Parasitologia Veterinária**, p.21, 1993.
- SRÉTER, T.; KASSAI, T.; TAKÁCS, E. The heritability and specificity of responsiveness to infection with *Haemonchus contortus* in sheep. **International Journal for Parasitology**, v. 24, n. 6, p. 871-876, 1994.
- STEAR, M.J.; BISHOP, S.C.; DUNCAN, J.L.; McKELLAR, Q.A.; MURRAY, M. The repeatability of faecal egg counts, peripheral eosinophil counts, and plasma pepsinogen concentrations during deliberate infections with *Ostertagia circumcincta*. **International Journal for Parasitology**, v. 25, n. 3, p. 375-380, 1995.
- UENO, H.; GONÇALVES, P.C. **Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes**, 3<sup>a</sup> edição, Japan International Cooperation Agency, Tokyo, Japão, 1989.

- UHLINGER, C.; FLEMING, S.; MONCOL, D. Survey for drug-resistant gastrointestinal nematodes in 13 commercial sheep flocks. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, 201, p.77-80, 1992.
- URQUHART, G.M.; JARRET, W.F.H.; JENNINGS, F.W. Immunity to *Haemonchus contortus* infection: relationship between age and succesful vaccination with irradiated larvae. **Am. J. Vet. Res.**, 27: 1645-1648, 1966.
- URQUHART, G.M.; ARMOUR, J.; DUNCAN, J.L. *et al.* **Parasitologia Veterinária**, 2ª edição, Guanabara-Koogan, Rio de Janeiro, 1998.
- VIEIRA, L.S.; BERNE, M.E.A.; CAVALCANTE, A.C.R. Resistência do *Haemonchus contortus* ao netobimin em ovinos. In: **Proc. VI Seminário Brasileiro de Parasitologia Veterinária**, p.57, 1989.
- WALLER, P.J. The development of anthelmintic resistance in ruminant livestock. **Acta Tropica**, v. 56, p. 233-243, 1994.
- WALLER, P.J; et al. Anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep: learning from the Australian experience. **Veterinary Record**, 136, p.411-413, 1995.
- WALLER, P.J. Anthelmintic resistance. **Veterinary Parasitology**, 72, p.391-412, 1997.
- WANYANGU, S.W.; BAIN, R.K. et al. Anthelmintic resistance among sheep and goats in Kenya. **Prev. Vet. Med.**, 25, p.285-290,1994.
- WELLER, P.F. The Immunobiology of Eosinophils. **The New England Journal of Medicine**, v.324, n.16, p. 1110-1118, 1991.
- WINDON, R.G.; DINEEN, J.K.; KELLY, J.D. The segregation of lambs into “responders” and “non-responders”: response to vaccination with irradiated *Trichostrongylus colubriformis* larvae before weaning. **International Journal for Parasitology**, v. 10, n. 1, p. 65-73, 1980.

- WOOLASTON, R.R.; BARGER, I.A.; PIPER, L.R. Response to helminth infection of sheep selected for resistance to *Haemonchus contortus*. **International Journal for Parasitology**, v. 20, n. 8, p. 1015-1018, 1990.
- WOOLASTON, R.R. Increasing resistance by selection. **Aciaar Proceedings**, Indonesia, n.74, p.22-25, 1996.
- WOOLASTON, R.R.; MANUELLI, P.; EADY, S.J.; BARGER, I.A.; LeJAMBRE, L.F.; BANKS, D.J.D.; WINDON, R.G. The value of circulating eosinophil count as selection criterion for resistance of sheep to Trichostrongyle parasites. **International Journal for Veterinary Parasitology**, v. 26, n. 1, p. 123-126, 1996.
- YAZWINSKI, T.A.; GOODE, L.; MONCOL, D.J.; MORGAN, G.W.; LINNERUD, A.C. *Haemonchus contortus* resistance in straightbred and crossbred Barbados Blackbelly sheep. **Journal of Animal Science**, v.51, n. 2, p.279-284, 1981.



## ANEXO

**Tabela 30:** ovelhas e seus respectivos cordeiros e a data de nascimento dos cordeiros.

Cordeiro (brinco)	Ovelha (mãe)	Sexo cordeiro	Data de nascimento
1	13	M	22/05/98
3	15	F	10/06/98
4	9 A	F	14/06/98
5	14 A	F	16/06/98
6	11 (saiu)	M	18/06/98
10	42V	F	05/07/98
11	1	M	30/06/98
12	1	M	30/06/98
13	12 A	F	28/06/98
14	12 A	F	28/06/98
15	Sacrificada	F	05/07/98
16	4	M	04/07/98
17	46V	M	26/06/98
18	5	M	30/07/98
19	18V	M	30/06/98
21	17	F	28/06/98
22	48V	F	28/06/98
24	10 A	M	28/06/98
25	5V	M	04/07/98
28	7	M	19/07/98
33	3	M	27/06/98
34	4V	F	04/07/98
36	8	M	08/07/98
37	9V	F	03/08/98
38	44 <sup>A</sup>	M	20/07/98
39	7"	M	08/08/98

**Tabela 31:** valores hematológicos de referência para a espécie ovina, segundo JAIN (1993).

Parâmetros sanguíneos	Valores
Eritrócitos totais ( $\times 10^6/\mu\text{l}$ )	9,0 - 15,0
Hematócrito (%)	27 - 45
Hemoglobina (g/dl)	9,0 - 15,0
Leucócitos totais ( $/\mu\text{l}$ )	4000 - 12000
Proteínas plasmáticas totais (g/dl)	6,0 - 7,5

Tabela 32: dados brutos de opg das ovelhas em todas as colheitas de fezes									
opg									
fêmea	13/Out	10/Nov	08/Dez	05/Jan	02/Fev	02/Mar	30/Mar	27/Abr	25/Mai
13	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15	100	0	0	0	100	0	0	0	0
9A	0	0	0	0	0	100	1200	0	0
14A	0	0	100	100	500	100	1500	100	100
42V	0	0	0	0	0	200	200	0	0
1	0	0	0	0	0	100	100	0	0
12A	100	0	0	100	0	100	100	0	100
4	0	0	0	0	100	100	400	100	100
46V	200	0	0	100	0	100	400	0	100
5	0	0	0	0	100	0	100	0	0
18V	0	0	0	800	500	0	9400	100	800
17	100	0	0	0	100	200	0	0	100
48V	0	0	100	200	700	1300	7900	100	1600
10A	0	0	100	900	100	300	10400	100	0
5V	100	0	0	0	100	300	100	100	0
7	0	0	100	0	0	100	600	0	0
3	0	0	0	0	600	100	100	0	0
4V	0	0	0	100	0	0	1000	0	100
8	100	0	100	2200	0	400	8800	0	100
9V	0	0	0	0	0	100	0	0	0
44A	600	0	0	0	200	100	0	100	200
7"	1800	0	0	100	0	200	200	0	0

Tabela 33: dados brutos de opg das ovelhas em todas as colheitas de sangue									
Hematócrito									
fêmea	13/Out	10/Nov	08/Dez	05/Jan	02/Fev	02/Mar	30/Mar	27/Abr	25/Mai
13	30	30	31	32	30	30	30	32	33
15	34	31	32	34	31	32	30	33	33
9A	35	33	30	34	32	33	28	30	28
14A	32	32	29	33	34	33	38	35	34
42V	28	27	32	28	26	29	25	30	33
1	27	28	29	34	19	34	30	28	32
12A	32	33	28	30	32	29	22	29	31
4	31	31	29	32	33	30	27	31	31
46V	32	31	29	29	30	31	33	34	32
5	32	29	31	33	31	31	33	33	31
18V	33	34	29	33	31	33	22	34	31
17	35	32	34	34	36	37	38	37	36
48V	36	35	34	32	29	31	27	36	34
10A	31	30	30	28	28	28	28	29	28
5V	28	31	31	31	30	30	30	32	34
7	34	37	31	36	33	35	38	39	31
3	27	31	30	33	34	35	37	30	31
4V	33	32	31	29	30	35	31	32	32
8	29	36	34	34	33	32	28	35	33
9V	30	31	29	31	31	31	27	32	31
44A	37	33	33	37	32	33	37	34	38
7"	30	29	32	30	31	34	31	32	30
Tabela 34: dados brutos das contagens de eosinófilos em todas as colheitas de sangue das ovelhas									
Cont. Eosinófilos									
fêmea	13/Out	10/Nov	08/Dez	05/Jan	02/Fev	02/Mar	30/Mar	27/Abr	25/Mai
13	806,25	325	778,13	343,75	487,5	700	509,37	859,37	337,5
15	462,5	268,75	318,75	478,13	281,25	300	559,37	315,62	168,75
9A	534,37	543,75	203,13	312,5	400	878,12	421,87	418,75	231,25
14A	859,37	550	800	400	781,25	756,25	478,12	325	350
42V	565,62	565,62	300	462,5	515,62	456,25	368,75	646,87	362,5
1	650	1553,12	912,5	1512,5	309,37	731,25	493,75	625	256,25
12A	325	600	434,37	853,13	925	365,62	353,12	471,87	371,87
4	834,37	500	328,13	459,38	881,25	456,25	318,75	321,87	237,5
46V	206,25	259,37	193,75	87,5	253,12	193,75	190,62	231,25	78,12
5	656,25	1718,75	1228,13	1403,13	696,87	843,75	806,25	850	615,62
18V	262,5	159,37	134,38	153,13	165,62	240,62	156,25	353,12	159,37
17	721,87	831,25	484,38	1137,5	675	675	568,75	362,5	396,87
48V	496,87	309,37	275	303,13	518,75	365,62	206,25	521,87	315,62
10A	1190,62	740,62	603,13	596,88	212,5	306,25	203,12	387,5	390,62
5V	1193,75	2687,5	1118,75	2218,75	896,87	734,37	659,37	475	259,37
7	615,62	796,87	656,25	265,63	634,37	287,5	403,12	262,5	221,87
3	578,12	921,87	1006,25	906,25	1134,37	740,62	646,87	940,62	446,87
4V	500	271,87	550	687,5	750	453,12	346,87	578,12	209,37
8	565,62	750	981,25	506,25	756,25	375	203,12	471,87	284,37
9V	606,25	487,5	496,88	668,75	409,37	315,62	387,5	1003,12	281,25
44A	384,37	1200	481,25	312,5	559,37	396,87	334,37	353,12	296,87
7"	215,62	1056,25	462,5	603,13	834,37	621,87	437,5	528,12	365,62

**Tabela 35:** dados brutos da concentração de hemoglobina de todas as colheitas de sangue das ovelhas

Hemoglobina									
fêmea	13/Out	10/Nov	08/Dez	05/Jan	02/Fev	02/Mar	30/Mar	27/Abr	25/Mai
13	10,6	12,2	14,5	10,2	10,5	10,8	11,9	10,6	10,4
15	11,64	9,94	12,24	11,43	10,8	11,43	10,95	11,58	11,32
9A	12,7	12,24	10,56	12,48	11,11	12,83	10,31	11,26	9,19
14A	11,3	12,24	11,56	11,11	12,83	11,11	11,94	12,3	12,72
42V	10,29	10,22	12,61	8,69	9,27	8,96	9,68	11,26	9,19
1	10,96	10,56	12,99	11,11	10,17	13,97	9,4	10,95	10,71
12A	10,63	12,24	11,9	9,86	10,49	10,8	9,68	10,31	10,37
4	11,64	10,89	13,74	9,86	11,43	10,8	10,31	10,95	9,77
46V	10,96	11,23	11,54	9,55	11,11	11,43	11,58	11,26	11,02
5	11,3	10,89	12,99	10,8	10,49	10,8	12,3	11,26	12,02
18V	12,7	12,61	12,99	11,11	12,13	11,78	8,53	11,94	12,72
17	11,98	11,23	12,99	11,78	12,13	13,58	10,63	13,76	10,71
48V	12,69	12,24	11,23	10,8	8,96	10,8	9,99	13,01	10,37
10A	11,64	11,56	11,9	9,27	8,14	10,17	8,8	9,4	10,37
5V	10,96	10,56	12,24	11,78	11,43	11,11	11,58	11,94	11,32
7	13,07	12,24	11,9	12,48	11,78	12,48	14,16	12,65	10,71
3	10,29	11,23	12,24	10,49	12,83	12,13	14,16	9,08	10,08
4V	11,64	11,56	12,61	10,8	10,8	13,58	11,58	12,3	11,33
8	9,36	12,99	13,24	11,43	11,43	12,48	8,8	12,65	9,46
9V	11,64	9,31	10,89	10,49	9,83	11,11	10,31	11,26	9,77
44A	13,45	11,23	11,23	12,83	11,11	12,48	12,65	11,58	11,32
7"	11,3	10,22	12,61	10,17	11,11	12,48	11,9	10,31	10,71

**Tabela 36:** dados brutos das contagens totais de eritrócitos de todas as colheitas de sangue das ovelhas

Eritrócitos totais									
fêmea	13/Out	10/Nov	08/Dez	05/Jan	02/Fev	02/Mar	30/Mar	27/Abr	25/Mai
13	8,84	9,54	10,6	11,4	8,48	8,2	9,6	8,36	8
15	10,4	9,06	10,34	11,7	7,4	8,06	8,8	8	10,54
9A	11,38	9,98	10,04	9,4	8,54	9,88	7	9,12	8
14A	10	10,14	10,9	12,42	8,72	8	12	8,86	8,08
42V	11,42	7,44	8,7	8,58	8,68	9,7	8,36	8,86	9,4
1	9,2	9,66	11,84	15,6	8,34	8,86	10	6,4	6,8
12A	7,4	8,74	9,84	9,86	10,64	6,6	8,08	6,42	7,2
4	11	9,74	12,18	9	8,56	10,1	8,22	7,68	8
46V	10,48	10,4	10,74	8,8	9,8	9,64	8,4	9,2	7
5	12	7,5	10,68	10,22	10,06	9,54	10,8	9,18	7,8
18V	13,4	9,96	10,98	8,34	9,58	7,9	8	7	7
17	9,52	9,64	13	14,96	12,2	11,96	11,2	7,92	7,2
48V	8	12,4	11,32	15,6	9,54	8,06	8,6	8,94	7
10A	17,82	10,44	10,32	9,14	8,02	8,9	9,9	8,32	7,8
5V	10,2	10,22	12,18	12,66	10,74	10,24	6,4	7,4	9,9
7	11,2	10,76	11,56	8,06	8,68	8,4	11	8,38	8,2
3	8,2	11	10,38	9,5	10,2	11,04	11,8	7,62	8
4V	11,2	6,26	10,38	9,22	7,32	9,76	9	7,6	7,6
8	7,2	11,92	14,96	10,1	11,92	12,94	8	8	6
9V	12,44	8,3	12,78	11,2	7,5	8,3	15	8,1	6,6
44A	10,6	9,28	11,32	17	10,68	9,32	11,6	8,48	10
7"	14,52	11,8	11,92	9	12,6	11	10,6	8,92	10,3

<b>Tabela 37: dados brutos das contagens totais de leucócitos de todas as colheitas de sangue das ovelhas</b>									
<b>Leucócitos totais</b>									
<b>fêmea</b>	<b>13/Out</b>	<b>10/Nov</b>	<b>08/Dez</b>	<b>05/Jan</b>	<b>02/Fev</b>	<b>02/Mar</b>	<b>30/Mar</b>	<b>27/Abr</b>	<b>25/Mai</b>
<b>13</b>	6300	5900	7900	7400	8600	6400	5100	5900	3900
<b>15</b>	5500	6300	7600	8100	9400	5200	6500	6300	8100
<b>9A</b>	5400	5100	6200	10900	7300	6600	4700	5000	3200
<b>14A</b>	6000	6000	8300	4400	5800	5300	6400	4700	4300
<b>42V</b>	7000	6900	7900	11600	6600	6700	8500	7200	5600
<b>1</b>	3500	5100	6300	9300	3600	6500	4900	9600	2100
<b>12A</b>	7700	5900	8000	10100	8600	7600	6300	6800	6300
<b>4</b>	5000	4700	6900	9300	6400	4800	3800	5500	4200
<b>46V</b>	5400	5900	5600	7800	5600	4000	3600	4200	4400
<b>5</b>	5900	5600	13800	7500	6600	7200	6400	4800	3800
<b>18V</b>	4000	4300	4800	10100	4000	4200	3400	4700	3100
<b>17</b>	3500	3300	7200	6000	5300	6500	5400	5200	6400
<b>48V</b>	4000	6800	5300	5700	5200	5900	3700	5400	3700
<b>10A</b>	4900	4900	7700	6900	6100	5600	4600	6400	6500
<b>5V</b>	4500	7000	5800	6700	5200	4900	6300	5200	5000
<b>7</b>	4000	5300	5400	4000	4300	4700	4900	4300	4000
<b>3</b>	3600	4500	8700	11400	7700	4800	6400	7700	3900
<b>4V</b>	4700	4300	6400	5700	3900	5600	4400	5300	4700
<b>8</b>	4200	9400	7400	8200	6500	5600	4300	6500	4400
<b>9V</b>	5100	7100	7200	11600	5700	5300	5700	5700	4100
<b>44A</b>	5100	8100	6500	6900	6300	5100	5800	6400	5700
<b>7"</b>	9300	4600	8300	5100	6200	7600	8300	5000	4600

Tabela 38: dados brutos das proteínas plasmáticas totais de todas as colheitas de sangue das ovelhas									
PPT									
fêmea	13/Out	10/Nov	08/Dez	05/Jan	02/Fev	02/Mar	30/Mar	27/Abr	25/Mai
13	6,2	6,6	6,4	6,6	6,2	6,4	6,6	6	6
15	6	6,6	6	7	6,4	6,2	6	6,6	6,6
9A	6	6,6	6	6,8	6	6,2	5,6	5,8	6,4
14A	5,2	6,6	6	6,4	6	6	6,2	5,8	5,6
42V	6	6,4	6,8	6,4	6	6,6	7	6,4	5,6
1	5,2	6,8	6,6	7	7	6,8	6	6	6
12A	6,2	6,6	6,2	6,4	6,4	6	5,4	6	6,2
4	6	6,4	6,6	6,4	6,4	6,6	6	6	6,6
46V	5,6	6,4	6,8	6	6	6	5,6	6	5,6
5	6	6,8	7,2	6,4	6,4	6,6	6,2	6,4	6,2
18V	6,6	6,6	6,4	6,4	6	5,6	4,8	6	6,4
17	6,2	7	6,2	6,6	6,4	6	6,6	6,4	5,8
48V	5,8	6,4	6,2	6,6	5,8	6,8	5	6	5,8
10A	6	6,6	6,2	6	5,8	6	5,4	6,6	6,6
5V	5,2	6,2	5,8	6,2	5,8	5,8	5,6	6	5,6
7	5,2	6,5	5,6	6,4	5,8	6	5,8	6,4	5,6
3	5,8	6,2	6,2	6,2	6,4	6,2	6,4	6	5,8
4V	6	6	6,8	6,8	6,8	6,2	6	6,2	5,8
8	5	7,4	6	6,6	6,2	6,4	5,6	6,2	6,2
9V	5,4	6,6	5,8	6,4	6,2	6	5,8	6	6,4
44A	6,2	7	6,4	6,8	6,4	6	6,2	6,2	5,8
7"	5	6	5,8	6	6	6,2	6	6,2	6,2

Tabela 39: dados brutos do opg de todas as colheitas de fezes dos cordeiros															
opg cordeiro	06/10/98	23/10/98	03/11/98	17/11/98	01/12/98	15/12/98	29/12/98	12/01/99	26/01/99	09/02/99	23/02/99	09/03/99	06/04/99	04/05/99	25/05/99
1	0	0	100	0	5200	4300	3600	2000	5800	8100	200	100	4300	27900	200
3	0	0	0	100	500	0	100	500	600	2000	1100	100	1200	1600	100
4	3800	1350	600	2900	4600	100	100	600	800	2800	100	0	500	2300	100
5	700	100	0	200	100	100	500	1100	2300	4000	100	0	100	400	100
6	0	0	0	1300	500	100	300	2000	9000	2500	0	0	1200	4100	700
10	0	0	100	100	200	0	0	vazio	1000	400	0	0	200	300	100
11	1000	0	300	3600	6000	0	200	1300	4000	3000	100	0	5400	ausente	300
12	100	0	0	500	1100	100	100	1100	3000	3000	100	0	3800	ausente	100
13	0	0	0	700	800	100	0	500	500	3700	100	0	7800	8100	200
14	0	0	0	100	300	0	100	1900	3700	900	100	0	2100	1200	100
15	100	200	100	1500	1800	100	100	700	2800	2200	0	0	4000	2100	100
16	0	100	100	200	900	100	100	800	700	4300	100	0	7400	4700	500
17	100	0	0	200	400	0	100	100	200	2400	0	0	4900	1300	900
18	500	0	100	3000	2000	4500	4900	4700	5600	2300	100	200	4600	9600	800
19	500	100	100	100	200	200	vazio	2600	3400	5800	0	200	2700	16900	100
21	100	50	0	0	100	200	100	1600	5700	6000	300	100	3100	900	100
22	200	0	0	0	500	100	100	400	1900	vazio	0	0	200	100	100
24	500	50	300	3600	2400	900	3800	2400	4500	7100	900	100	5200	6600	100
25	3500	50	0	300	2000	1400	800	400	3100	5900	400	100	4500	4400	0
28	5200	500	200	13900	4600	100	100	300	3300	5100	100	0	300	4500	700
33	200	0	0	0	0	200	700	1400	2200	1700	100	0	ausente	ausente	ausente
34	300	1100	9300	12000	6700	100	100	300	4700	5100	8150	0	400	2300	100
36	500	100	100	700	300	vazio	1100	vazio	2700	1400	100	100	2300	3300	0
37	1200	100	2100	5500	3700	0	100	400	3100	1300	0	100	8200	9300	300
38	200	0	400	2500	5600	100	200	1000	3000	2000	100	100	1900	4200	100
39	1200	0	vazio	3400	3300	100	0	700	2000	1800	100	0	1400	100	100

Tabela 40: dados brutos de hematócrito dos cordeiros															
Hematócrito															
cordeiro	06/Out	23/Out	03/Nov	17/Nov	01/Dez	15/Dez	29/Dez	12/Jan	26/Jan	09/Fev	23/Fev	09/Mar	06/Abr	04/Mai	25/Mai
1	34	27	31	25	26	27	25	27	23	27	26	25	21	18	27
3	35	36	30	32	30	28	27	29	31	25	24	25	25	30	30
4	31	35	32	29	27	30	35	37	29	29	33	33	32	26	31
5	38	36	32	31	31	34	29	28	30	26	29	28	28	26	27
6	34	37	33	30	32	30	28	32	25	25	31	30	26	23	32
10	37	38	33	31	35	30	30	33	25	31	33	28	33	31	32
11	38	32	30	24	23	27	27	28	31	30	27	32	24	23	27
12	31	23	32	30	30	30	30	30	30	24	26	32	28	29	30
13	30	32	35	30	32	32	27	31	30	26	29	25	21	21	29
14	34	37	32	32	35	28	30	28	28	26	31	28	25	27	31
15	30	32	33	28	31	32	30	30	27	28	28	27	28	30	35
16	33	33	31	32	29	28	25	27	28	23	29	28	22	27	29
17	36	35	34	33	30	27	29	32	27	28	28	29	21	24	30
18	34	30	32	30	28	26	27	26	28	29	32	31	25	22	29
19	32	35	35	32	31	32	25	30	28	24	28	28	27	16	29
21	35	37	32	35	32	34	30	27	30	26	29	28	31	28	29
22	34	39	37	30	36	34	28	32	21	25	29	28	33	30	ausente
24	33	34	32	26	28	28	26	28	32	27	31	28	22	22	31
25	27	37	25	34	27	26	27	30	26	27	33	28	27	22	32
28	32	37	22	13	14	32	33	33	33	30	32	28	27	19	32
33	37	35	35	33	34	30	34	34	29	31	28	32	ausente	ausente	ausente
34	33	33	26	21	18	27	29	29	24	23	19	24	27	19	30
36	33	37	33	30	32	30	31	32	30	32	29	29	28	21	32
37	32	37	33	20	25	30	32	30	28	25	28	26	26	26	31
38	39	43	40	32	30	39	36	32	33	26	33	31	24	28	37
39	28	25	29	23	26	28	27	29	24	25	28	26	25	28	27



Tabela 41: dados brutos das concentrações de hemoglobina dos cordeiros															
Hb															
cordeiro	06/Out	23/Out	03/Nov	17/Nov	01/Dez	15/Dez	29/Dez	12/Jan	26/Jan	09/Fev	23/Fev	09/Mar	06/Abr	04/Mai	25/Mai
1	8,78	9,66	11,23	7,58	9,3	8,69	8,96	10,17	8,6	8,13	9,27	10,17	6,58	9,43	9,46
3	10,63	11,3	11,23	10,89	10,6	8,69	9,27	8,68	10,7	7,31	8,13	8,14	8,8	9,74	9,74
4	10,29	11,3	11,23	9,01	9,6	10,49	11,43	12,48	8,6	9,27	10,17	12,13	10,95	8,31	10,67
5	13,08	10,63	11,56	9,93	11,9	10,79	9,86	9,27	9,2	8,41	10,48	9,55	9,4	9,1	10,06
6	10,97	11,3	11,9	10,56	10,9	9,27	9,27	10,17	8,4	8,68	10,17	9,86	8,8	8,31	10,71
10	11,3	12,31	12,61	11,23	12,2	10,49	9,55	12,13	8,4	10,17	10,79	10,49	11,26	10,05	11,33
11	10	11,3	11,56	6,49	8,7	8,14	8,41	9,86	10,4	9,86	8,96	9,27	6,58	6,22	8,58
12	10,97	9,66	11,56	9,01	11,9	10,17	10,17	10,48	10,4	6,4	9,86	11,11	8,14	9,43	10,71
13	13,08	12,31	12,99	9,3	11,6	10,79	9,86	11,42	11,1	8,68	11	11,78	5,83	6,73	10,37
14	9,66	11,64	12,24	10,22	12,4	10,17	9,86	10,48	10,1	8,68	10,48	10,17	8,8	10,05	10,98
15	10,29	10,63	12,24	8,13	10,2	10,17	9,27	11,11	10,7	9,27	9,86	10,17	8,97	9,1	11,64
16	10,29	11,64	12,24	9,59	11,2	8,96	9,86	9,54	9,2	7,59	9,54	11,11	7,42	8,58	9,19
17	11,3	12,31	12,99	11,9	9,9	8,96	9,86	10,48	10,1	8,68	9,54	10,8	7,42	8,85	10,71
18	11,3	12,31	12,24	9,3	10,6	8,69	8,41	8,41	10,1	8,13	10,79	11,78	10,18	7,23	9,46
19	10,63	12,31	12,99	12,99	12,9	10,49	9,86	10,17	9,8	7,31	9,54	11,43	7,03	5,29	9,19
21	10,63	12,31	11,9	12,24	11,6	11,11	10,8	10,17	9,2	8,13	9,86	9,86	10,18	10,05	10,06
22	11,64	13,83	13,74	10,22	12,8	12,13	9,55	11,42	8,9	8,41	9,27	11,11	11,26	9,74	ausente
24	10,63	10,96	9,3	9,01	10,8	9,86	9,27	9,86	9,5	7,31	11,11	9,55	7,97	7,77	9,77
25	9,66	11,98	10,56	10,22	9,6	8,96	8,14	10,79	8,9	7,86	11,42	10,8	8,8	7,5	10,98
28	10,63	12,69	8,42	3,39	3,9	9,86	10,8	11,42	11,1	9,54	10,48	10,17	11,58	6,73	11,64
33	13,08	12,69	12,61	11,9	11,2	11,43	11,43	10,17	11,7	8,96	10	10,17	ausente	ausente	ausente
34	11,64	11,64	9,59	6,24	6	9,86	9,55	10,48	9,5	6,57	6,3	8,96	8,8	7	10,37
36	10,63	11,98	12,61	10,89	11,2	10,79	10,49	11,77	9,8	10,48	9,86	10,49	9,68	9,1	10,06
37	9,66	12,69	10,56	5,74	7,8	9,55	10,8	11,11	10,1	7,08	9,54	9,27	7,87	8,04	10,34
38	11,98	14,63	12,61	10,22	10,6	12,48	14,75	13,18	12,8	10,79	11,77	13,58	8,14	10,36	13,42
39	7,64	10,29	11,23	7,04	9,9	7,87	8,96	8	8,4	8,13	10	8,41	8,8	10,05	8,85

<b>Tabela 42: dados brutos das contagens totais de eritrócitos dos cordeiros</b>									
<b>Eritrócitos</b>									
<b>cordeiro</b>	<b>06/Out</b>	<b>03/Nov</b>	<b>01/Dez</b>	<b>12/Jan</b>	<b>09/Fev</b>	<b>09/Mar</b>	<b>06/Abr</b>	<b>04/Mai</b>	<b>25/Mai</b>
1	12	10,6	11,2	11,84	8,82	9	6,7	6,2	7,8
3	10,52	10	9,4	10,96	6,58	8,7	6,4	9,8	9,8
4	12,2	10,26	9,6	13,48	6	8,6	6,64	8,56	9
5	12,74	11,12	10,2	10,48	7,8	9,28	8,6	7,38	8,4
6	9,92	10,2	16	11,64	7,72	10	8,2	7,26	7
10	16,1	15,8	14,7	14,62	9,4	9,86	9,6	9,64	10
11	8	9,76	11	9,58	6,72	8,6	11	5,6	8
12	9,68	11	12,4	7,28	6,44	9,2	7,4	6,6	7,2
13	12,64	11,78	9	14,1	7,12	12	7	6,8	7,2
14	12,72	9,8	13,38	12,92	7,12	11,2	9,5	8,68	10,6
15	10,1	10,16	15,4	10,4	8,36	8,94	6,6	5,6	8
16	13,08	13,98	10,62	9,36	6,16	8,12	6	7,76	8
17	16,04	10,84	11,4	15,94	8,9	9,9	4,7	7,66	7
18	10	9,8	8,78	8,2	8,08	10,38	7,24	5,86	8
19	10,38	14,5	10,62	9,74	8,42	7	7,4	4,34	10
21	11,08	11,1	10,94	13,64	7,82	8,46	8,26	7,84	8
22	12,2	10,66	10,94	13,22	7,98	7,6	10,54	11,66	ausente
24	11,18	12,96	9,2	9,4	6,62	8	8,8	6,46	9,94
25	6,8	11,28	9	9,12	7,16	8,66	7,2	5,56	7
28	13,3	13,26	6	13,8	10,26	8	6,38	6,86	9,4
33	13	12,2	12,64	13,16	10,6	8,12	ausente	ausente	ausente
34	9,64	6	6,48	10,32	6,54	7	12	6	7
36	10,68	9,76	11,22	12,5	8,3	10,9	12,42	8,02	12
37	10,5	8,4	8,6	11,3	8,04	9,2	13,4	7	9,50
38	16,82	12,56	9,6	11,2	10,54	10	7,9	10,4	9
39	8,1	10,6	9,6	10,22	7,5	8,6	5,6	6,22	8

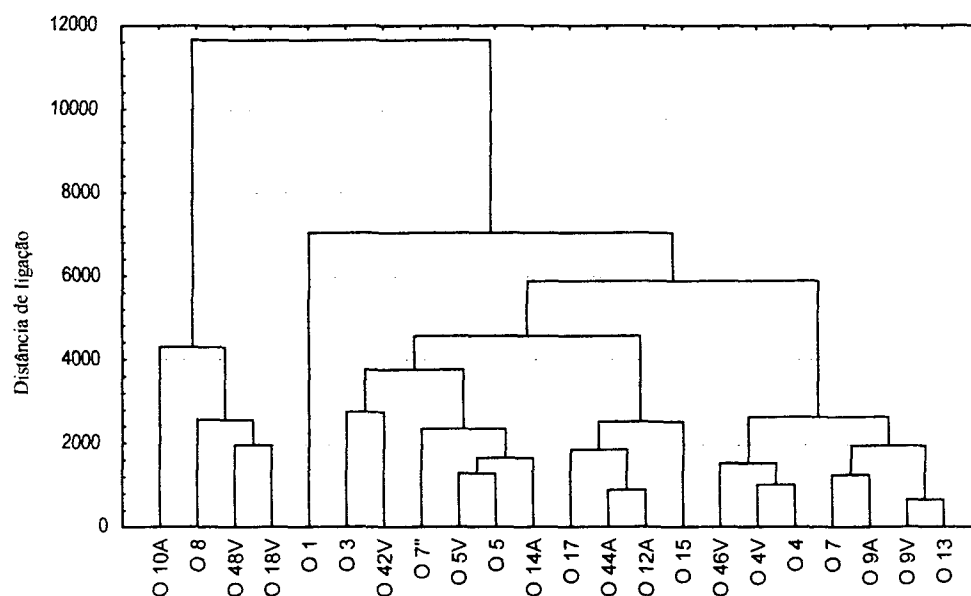
<b>Tabela 43: dados brutos das contagens totais de leucócitos dos cordeiros</b>									
<b>Leuc.Totais</b>									
<b>cordeiro</b>	<b>06/Out</b>	<b>03/Nov</b>	<b>01/Dez</b>	<b>12/Jan</b>	<b>09/Fev</b>	<b>09/Mar</b>	<b>06/Abr</b>	<b>04/Mai</b>	<b>25/Mai</b>
1	9300	6200	10700	5800	6200	7300	6400	4000	4600
3	13700	9700	11300	5900	7700	8700	7200	8300	8300
4	14400	13600	10900	7000	6900	13400	7700	8300	6900
5	7600	7000	6600	6500	5200	9400	4300	5900	6400
6	4300	7200	8000	5300	4100	9700	5000	4600	5000
10	8800	9700	8900	8600	7100	8700	4100	5400	5200
11	7500	10600	6400	7900	7100	8000	5500	5400	5400
12	7800	6600	7000	3500	8400	8000	6400	6000	4100
13	6700	7000	7500	7000	6000	10200	6300	4800	7700
14	7500	11300	7200	4700	6000	7100	5900	6500	5700
15	5300	7000	7200	5600	6200	5100	4200	7900	6000
16	7600	5600	6700	6200	4800	7700	4800	6300	5500
17	14000	9200	9900	7600	9300	9200	5600	5700	7800
18	13500	11300	12800	10100	9500	11500	6900	8500	7600
19	6800	6500	8000	6600	3200	3900	4300	3500	3400
21	7000	9100	7000	5800	4200	7600	6400	6100	6000
22	16600	10000	12000	8800	6900	11200	8000	7300	ausente
24	11800	11200	9600	7800	6100	8000	6600	6100	6900
25	4200	4500	8700	3400	3700	4100	3900	4100	2400
28	5600	5000	5000	5300	5000	6400	4600	3700	4400
33	4900	5000	10200	6300	6100	6100	ausente	ausente	ausente
34	7700	6600	5100	4300	4500	5400	7600	6200	6400
36	4900	6100	6200	7300	6300	5600	5800	6600	3600
37	3000	9000	7800	5400	6700	5400	5700	5800	5000
38	12300	8000	7800	6700	6900	8800	5900	4700	3800
39	5900	7100	8000	7000	7600	8000	5000	7800	6500

**Tabela 44: dados brutos das proteínas plasmáticas dos cordeiros**

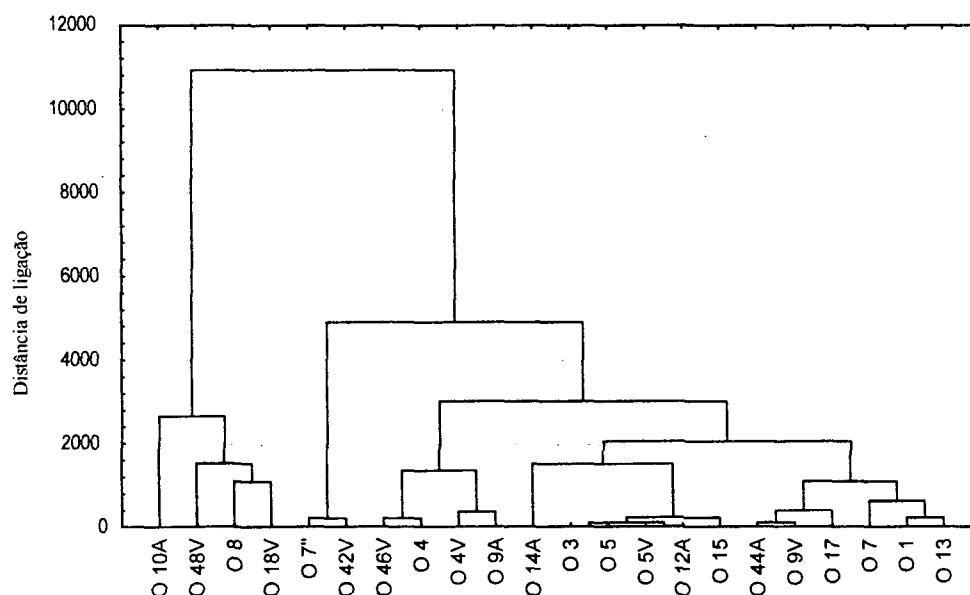
PPT															
cordeiro	06/Out	23/Out	03/Nov	17/Nov	01/Dez	15/Dez	29/Dez	12/Jan	26/Jan	09/Fev	23/Fev	09/Mar	06/Abr	04/Mai	25/Mai
1	5	5	5,2	4,8	4,6	4,6	5	5,2	4,8	5,6	5,4	6	4,9	3,6	5
3	5,6	5	5,8	5,2	5,2	5,4	5,8	6	5,2	6,2	5,2	5,8	5,9	6	6
4	5,2	5,2	5	5,6	5,2	5,6	6	6,2	5,2	6	6	6	6	5,4	6,2
5	5,6	5,6	6	5,4	5,8	5,8	5,6	5,8	5,6	5,4	6	6,2	5,4	6	6,2
6	5,2	6	5,6	5	5,8	5	5,2	5,6	6,4	6,4	6	5,8	5,1	5,2	6,4
10	6	6	5,8	5,6	5,8	5,4	5,8	6,2	6,4	6	6	5,8	6	6	6,2
11	5,6	5	5,6	5	5,2	5,2	5,4	5,6	5,8	5,6	7	6	5	4,8	6
12	6	5	6	5,6	5,8	5,4	6	6,2	5,6	5,4	6,6	6,8	5,3	6,6	6,8
13	5,2	5,2	5,6	5,2	5,4	5,6	5,6	6,2	6	5,2	5,6	5,6	5	4,8	5,8
14	5	5	5,8	5	5,4	5	5,2	5,8	5,4	5,2	5,8	6	5,9	5,2	6,2
15	5	5,6	6,6	5,8	6	5,4	6	6	5,2	6	7	5,8	6	6,4	7,2
16	6	5,4	6,8	6	6	6	5,6	6	5,2	5,6	6,2	6,2	5,2	6	6,2
17	6,6	5,2	6,2	6,2	5,8	6	6	6,4	6,4	6,4	6	6	5	5,6	6,6
18	5,6	5	5,8	6,4	5	5,2	5	5,8	5,8	5,4	6,6	6,4	5,3	5	5,8
19	5,6	5	5,8	5,8	6,2	5,8	5,4	6	5,6	5,2	6,4	6,6	5,3	5	6
21	5,4	6,6	5,8	6	5,6	5,6	5,6	5,6	5,6	5	6	5,8	5,5	6,4	6,2
22	5,2	5	5,6	5	6	5,8	5,2	6	5	5,2	5,6	6	6,1	6	ausente
24	5,6	5,4	5,6	5	5,6	6	5,4	5,8	5,4	5,2	6,2	6	5	5,6	6
25	5	5,2	6	5,6	5	5	5,4	5,4	5	5	6,4	6,2	5,1	5	5,6
28	5,2	5,4	4,6	3	2,6	4,2	5,4	5,4	5,6	6	6,2	5,8	5	4,6	5,8
33	5,2	4,8	5,2	5,4	5,4	6	5,6	5,8	6,2	5,6	6,6	5,4	ausente	ausente	ausente
34	5,2	5,4	5	4,2	4,2	4,8	5,2	5,4	5,2	5	5	6	5,5	4,4	5,8
36	5,4	5,6	6	5,4	5,6	5,8	6	6,4	5,8	6,2	6	6,2	6	5,8	6,2
37	5,6	5,2	4,8	4	4	4,4	5	5	6,6	5	5,6	5,4	5,8	4,8	6,13
38	5,2	5,8	5,8	5,4	5	5,4	5	5,8	5,6	5	6	6,2	5	5,4	6,2
39	5	5,2	5,2	4,6	4,8	5	5	5,4	5	5,6	6	5,8	5,2	6	6

**Tabela 45: dados brutos das contagens de eosinófilos dos cordeiros**

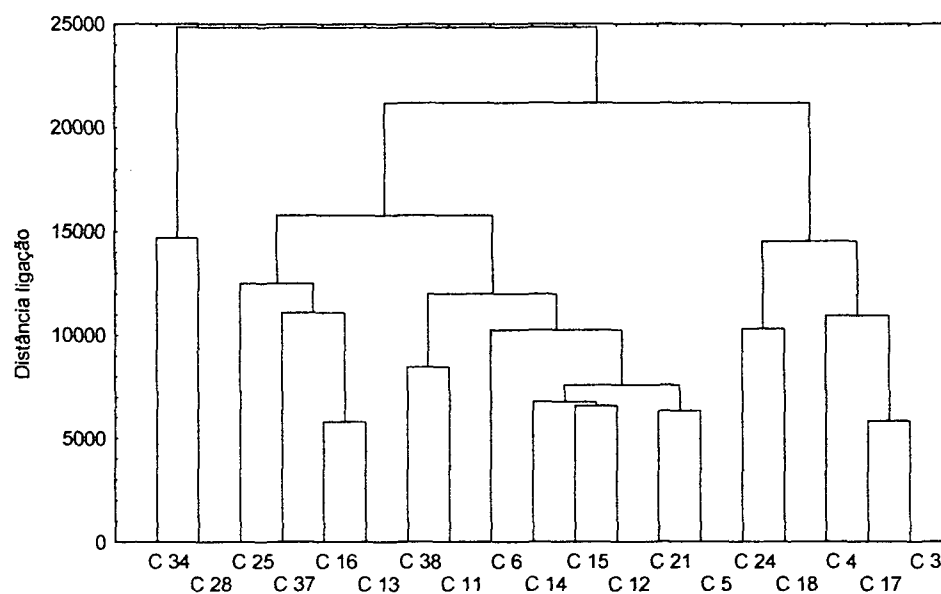
cordeiro	06/10/98	23/10/98	03/11/98	17/11/98	01/12/98	15/12/98	29/12/98	12/01/99	26/01/99	09/02/99	23/02/99	09/03/99	06/04/99	04/05/99	25/05/99
1	71,87	221,87	190,62	362,5	75	121,88	381,25	81,25	137,5	62,5	378,12	296,87	84,37	203,12	325
3	43,75	103,12	84,37	43,75	62,5	71,88	59,38	78,12	53,12	71,87	59,37	275	62,5	221,87	221,87
4	56,25	53,12	118,75	62,5	100	81,25	128,13	200	115,62	150	300	606,25	65,62	406,25	218,75
5	28,12	65,62	31,25	50	12,5	50	46,88	118,75	53,12	81,25	146,87	90,62	75	143,75	93,75
6	12,5	34,37	56,25	6,25	40,62	18,75	28,13	34,37	6,25	18,75	81,25	56,25	34,37	106,25	68,75
10	131,25	71,87	96,87	96,87	150	53,13	93,75	584,37	6,25	128,12	512,5	131,25	253,12	137,5	406,25
11	28,12	84,37	62,5	50	40,62	40,63	131,25	21,87	356,25	121,87	231,25	190,62	84,37	200	140,62
12	18,75	28,12	28,12	81,25	28,12	28,13	81,25	103,12	40,62	118,75	106,25	78,12	84,37	103,12	46,87
13	21,87	81,25	75	65,62	106,25	40,63	84,37	103,12	93,75	100	128,12	231,25	78,12	156,25	146,87
14	65,62	150	162,5	78,12	81,25	40,63	103,13	221,87	115,62	100	184,37	318,75	96,87	337,5	340,62
15	50	34,37	121,87	84,37	100	106,25	268,75	231,25	37,5	265,62	37,5	200	171,87	306,25	225
16	140,62	131,25	62,5	50	15,62	65,63	165,63	262,5	93,75	118,75	237,5	78,12	84,37	128,12	218,75
17	43,75	43,75	71,87	40,62	40,62	37,5	128,13	93,75	68,75	87,5	71,87	84,37	75	109,37	143,75
18	96,87	196,87	162,5	134,37	287,5	321,88	387,5	1168,75	384,37	734,37	312,5	493,75	278,12	915,62	312,5
19	100	46,87	15,63	9,37	28,12	25	21,88	12,5	31,25	12,5	40,62	106,25	65,62	53,12	115,62
21	53,12	43,75	46,87	31,25	21,87	46,88	28,13	40,62	43,75	25	112,5	109,37	140,62	378,12	115,62
22	71,87	184,37	118,75	103,12	68,75	75	112,5	221,87	131,25	234,37	293,75	306,25	325	256,25	ausente
24	43,75	206,25	50	65,62	28,12	37,5	150	156,25	25	90,62	71,87	168,75	68,75	112,5	140,62
25	25	46,87	37,5	50	46,87	46,88	137,5	96,87	90,62	59,37	296,87	134,37	56,25	146,87	34,37
28	46,87	31,25	46,87	12,5	28,12	12,5	25	56,25	34,37	87,5	53,12	75	43,75	468,75	37,5
33	50	43,75	9,38	71,87	25	56,25	31,25	37,5	21,87	71,87	62,5	140,62	ausente	ausente	ausente
34	31,25	43,75	62,5	75	12,5	43,75	37,5	93,75	87,5	125	106,25	71,87	115,62	150	128,12
36	46,87	34,37	62,5	18,75	37,5	15,63	71,88	350	90,62	87,5	146,87	140,62	68,75	218,75	1100
37	31,25	34,37	28,12	21,87	37,5	34,38	15,63	56,25	43,75	87,5	134,37	225	28,12	37,5	59,37
38	28,12	21,87	62,5	31,25	12,5	37,5	153,13	43,75	78,12	43,75	90,62	56,25	18,75	93,75	59,37
39	28,12	153,12	84,37	90,62	34,37	37,5	62,5	78,12	181,25	112,5	140,62	146,87	178,12	218,75	162,5



**Figura 18:** Dendrograma construído segundo método hierárquico ascendente, utilizando a distância euclidiana a linhas completas. Foram utilizados os dados de opg e contagem total de leucócitos das três últimas colheitas de sangue (30/03/99, 27/04/99 e 25/05/99) das ovelhas.



**Figura 19:** Dendrograma construído segundo método hierárquico ascendente, utilizando a distância euclidiana a linhas completas. Foram utilizados os dados de opg e contagem total de leucócitos do pico de parasitismo (30/03/99) das ovelhas.



**Figura 20:** Dendrograma construído segundo método hierárquico ascendente, utilizando a distância euclidiana a linhas completas. Foram utilizados todos os dados de todas as colheitas de fezes e de sangue dos cordeiros.